

SÉRGIO FERREIRA MÓDENA

**DISPLASIA E ADENOCARCINOMA NO ESÔFAGO
DE BARRETT SECUNDÁRIOS AO REFLUXO
DUODENO-ESÔFAGO-GÁSTRICO E NITRITO DE
SÓDIO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

**CAMPINAS
2009**

SÉRGIO FERREIRA MÓDENA

**DISPLASIA E ADENOCARCINOMA NO ESÔFAGO
DE BARRETT SECUNDÁRIOS AO REFLUXO
DUODENO-ESÔFAGO-GÁSTRICO E NITRITO DE
SÓDIO. ESTUDO EXPERIMENTAL EM RATOS.**

Tese de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em
Ciências Médicas, Área de Cirurgia

ORIENTADOR: PROF. DR. NELSON ADAMI ANDREOLLO

**CAMPINAS
2009**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecária : Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

M72d Módena, Sérgio Ferreira
 Displasia e adenocarcinoma no esôfago de Barrett secundários ao
 refluxo duodeno-esôfago-gástrico e nitrito de sódio. Estudo
 experimental em ratos / Sérgio Ferreira Módena. Campinas, SP :
 [s.n.], 2009.

Orientadores : Nelson Adami Andreollo, Luciana Rodrigues
Meirelles

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Esôfago. 2. Esôfago de Barrett. 3. Nitritos. I. Andreollo,
Nelson Adami. II. Meirelles, Luciana Rodrigues. III. Universidade
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

**Title: DYSPLASIA AND ADENOCARCINOMA OF THE BARRETT'S ESOPHAGUS
SECONDARY TO THE DUODENOGASTROESOPHAGIC REFLUX AND SODIUM
NITRITE. EXPERIMENTAL STUDY IN RATS.**

Keywords: • Esophagus
 • Barrett's Esophagus
 • Nitrites

Titulação: Mestre em Cirurgia
Área de concentração: Cirurgia

Banca examinadora:

Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo
Prof. Dr. Eugenio Américo Bueno Ferreira
Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes

Data da defesa: 26-02-2009

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Sergio Ferreira Modena

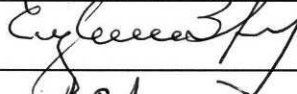
Orientador: Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo

Membros:

1. Prof. Dr. Nelson Adami Andreollo -



2. Prof. Dr. Eugenio Américo Bueno Ferreira -



3. Prof. Dr. Luiz Roberto Lopes -



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

Data: 26/02/2009

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Mercedes e Ezídio por me ensinarem a escutar e
valorizar a queixa das pessoas.

Aos meus professores por me ensinarem a transformar este ensinamento em
forma de ajudar os doentes.

Ao meu filho Victor, pelo ser humano e bom filho que é.

Aos meus sogros, Alayde e Ítalo, que me servem de exemplo.

À Sandra que me escolheu para ser o seu companheiro nesta
aventura da vida.

DEDICATÓRIA

Ao Professor Doutor Nelson Adami Andreollo,
que sabe e ensina semear.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Sérgio de Moura Campos e Eduardo Hypólito Barba *“in memoriam”*, que com paciência e dedicação me ensinaram os primeiros nós cirúrgicos e me conduziram à vida acadêmica.

Ao Professor Dr. Eugênio Américo Bueno Ferreira, que ensina postura ética, respeito ao paciente e amor à cirurgia.

Ao Professor Dr. Roberto Anania de Paula que além de orientador e exigente profissional sabe manter aceso o espírito acadêmico dos seus pares.

Ao Professor Dr. Nelson Adami Andreollo, que consegue ajudar aos que sonham em melhorar. Viabiliza este sonho dando exemplos de capacidade, humanismo, sabedoria, paciência e persistência.

À Prof^a Dr^a Luciana Rodrigues Meirelles pelos ensinamentos e ajuda.

À Marina Rachel de Araujo, bióloga e amiga de todas as horas, pela dedicação e, também, Maria Madalena de Abreu Rodrigues, Michelle Cristina Rodrigues, Ana Cristina de Moraes e William Adalberto Silva, do Núcleo de Experimentos pela dedicação e cuidado com nossos experimentos.

Aos funcionários da Biblioteca da FCM UNICAMP e da Faculdade de Medicina de Jundiaí na pessoa da Sra. Aiko Shibukawa, pela valiosa ajuda.

Aos funcionários Maria Lúcia de Oliveira, da Técnica Cirúrgica e Marcos Pinto Ribeiro do Laboratório de Informática da Faculdade de Medicina de Jundiaí.

Aos colegas Itibagi Machado, Josemeire Mehl, Marcus Vinicius, Osvaldo Luporini, Luiz Alberto Costa, Cassiano Ricardo, Dagoberto Coimbra; reais amigos nas horas difíceis. Verdadeiros espíritos vivos da Faculdade de Medicina de Jundiaí.

Aos alunos de Medicina, razão pela qual nos dedicamos.

“O que importa na vida não é o ponto de partida,
mas a caminhada.
Caminhando e semeando, no fim,
terás o que colher”.

Cora Coralina

Lista de Abreviaturas	x
Lista de Gráficos	xi
Lista de Tabelas.....	xii
Lista de Figuras.....	xiii
RESUMO	xiv
ABSTRACT	xv
1. INTRODUÇÃO	16
1.1 Refluxo entero-gástrico	21
1.2 Refluxo gastro-esofágico	22
1.3 Modelos experimentais de refluxo	24
1.4 Metaplasia – displasia- adenocarcinoma	25
1.5 Classificação histológica	26
1.6 Progressão do adenocarcinoma do esôfago	28
2. OBJETIVOS.....	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	32
3.1 Animais	33
3.2 Grupo de animais e tempo de observação	33
3.3 Drogas e concentrações utilizadas	34
3.4 Materiais cirúrgicos	34
3.5 Quantificação do volume diário ingerido pelos animais	35
3.6 Preparo das soluções	35
3.7 Procedimentos realizados nos animais	35
3.8 Anastomose duodeno-esôfago-gástrica	36
3.9 Cuidados pós-operatórios	42
3.10 Tempo de observação e estudo dos animais	42
3.11 Controle da ingestão das soluções	42
3.12 Coleta das peças cirúrgicas	43
3.13 Análise macroscópica	43
3.14 Análise microscópica	44
3.15 Metodologia estatística	45

4. RESULTADOS	46
4.1 Peso dos animais	47
4.2 Análise macroscópicas	47
4.3 Análise microscópica	48
4.3.1 Intensidade da esofagite	48
4.3.2 Metaplasia intestinal	49
4.3.3 Esôfago de Barrett displasia e adenocarcinoma	54
4.3.4 Classificação de Viena	57
5. DISCUSSÃO	62
6. CONCLUSÕES	74
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
8. APÊNDICES	85

LISTA DE ABREVIATURAS

ADEG	Anastomose duodeno-esôfago-gástrica
B II	Billroth Dois
CEMIB	Centro de Bioterismo da UNICAMP
DAG	Displasia de Alto grau
DBG	Displasia de Baixo grau
DMNM	2,6- Dimethylnitrosomorpholina
DNA	Ácido Desoxi-ribonucleico
DRGE	Doença do Refluxo Gastro-Esofágico
EB	Esôfago de Barrett
EIE	Esfíncter inferior do esôfago
FCM	Faculdade de Ciências Médicas
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
G3	Grupo 3
G4	Grupo 4
HE	Hematoxilina-Eosina
MNAN	methyl-n-amylNitrosamina
NMCE	Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental
NNN	N-Nitrosonicotine
RDE	Refluxo duodeno-esofágico
RDEG	Refluxo duodeno-esôfago-gástrico
RGE	Refluxo gastro-esofágico
RP	Refluxo pancreático
S.P.F.	Specific Pathogen Free
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - Distribuição percentual de esofagite segundo grupos de estudo.	50
GRÁFICO 2 - Distribuição percentual de metaplasia segundo grupos de estudo.	53
GRÁFICO 3 - Distribuição percentual de esôfago de Barrett segundo grupos de estudo.	56
GRÁFICO 4 - Distribuição percentual de categorias Viena segundo grupos de estudo	59

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Classificação de Viena	27
TABELA 2: Peso dos ratos (em gramas) conforme grupos de estudo	47
TABELA 3: Intensidade da esofagite conforme os grupos	49
TABELA 4: A metaplasia intestinal segundo os grupos	52
TABELA 5: Estudos histopatológicos nos grupos e análise estatística comparativa	55
TABELA 6: Classificação de Viena	58
TABELA 7: Mostra autores que realizaram pesquisas experimentais relacionando o refluxo do conteúdo entérico	70

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Ilustração da anastomose duodeno-esôfago-gástrica látero-lateral	37
FIGURA 2: Mostra a anatomia normal do animal, com visão panorâmica do acesso cirúrgico	38
FIGURA 3: Mostra a exposição da luz da transição do esôfago e estômago, após a abertura da parede anterior longitudinalmente	39
FIGURA 4: Mostra detalhe da anastomose duodeno-esôfago-gástrica látero-lateral	40
FIGURA 5: Mostra detalhe do fechamento posterior da anastomose duodeno-esô-fago-gástrica. Note-se a nítida diferença da transição esôfago-gástrica - Linha "Z"	41
FIGURA 6: Peça retirada em monobloco	48
FIGURA 7: Abertura através da grande curvatura, expondo a área de anastomose	48
FIGURA 8: Aspecto histológico do animal 5 do grupo G1	50
FIGURA 9: Aspecto histológico mostrando esofagite erosiva Intensa.	49
FIGURA 10: Aspecto histológico mostrando metaplasia intestinal.....	54
FIGURA 11: Aspecto histológico com metaplasia intestinal	57
FIGURA 12: Aspecto histológico negativo para displasia (Categoria 1 de Viena)	59
FIGURA 13: Aspecto histológico Indefinido para displasia (Categoria 2 de Viena)	60
FIGURA 14: Aspecto histológico mostrando displasia de baixo grau (DBG) (Categoria 3 de Viena)	60
FIGURA 15: Aspecto histológico panorâmico visualizando epitélio estratificado, epitélio tipo Barrett e carcinoma invasivo (Categoria 5 de Viena)	61
FIGURA 16: Aspecto histológico mostrando Neoplasia invasiva (Categoria 5 de Viena)	61

Os compostos de nitrito e nitrato são sais há muito empregados como conservantes de alimentos, que neste atual contexto de aumento acentuado da população mundial e escassez de alimentos, será cada vez mais empregado. Por outro lado, o perfil da sociedade é, cada vez mais, se utilizar de alimentos industrializados prontos para consumo, nos quais estão embutidos vários conservantes na sua elaboração. Estes sais, por sua vez, têm ação danosa ao organismo em situações específicas, como demonstram vários experimentos.

A Doença do Refluxo Gastro-Esofágico tem crescido em incidência por todo mundo e em especial em países desenvolvidos como os Estados Unidos e Europa, onde são relatados índices alarmantes do crescimento da freqüência dos carcinomas da junção esôfago-gástrica. O objetivo desta pesquisa foi analisar o modelo experimental de refluxo duodeno-esôfago-gástrico e a ingestão de solução de nitrito de sódio na gênese do adenocarcinoma associado ao esôfago de Barrett. Sessenta ratos machos Wistar foram divididos em quatro grupos, com vinte animais controles não operados (10 animais ingeriram somente água e 10 animais ingeriram água mais solução de nitrito de sódio) e quarenta animais submetidos a anastomose duodeno-esôfago-gástrico látero-lateral (20 animais ingeriram somente água e 20 animais ingeriram água mais solução de nitrito de sódio). A classificação de Viena para displasia e adenocarcinoma foi empregada na análise dos resultados. Após 42 semanas de observação, nos animais operados sem ingestão de nitritos o esôfago de Barrett foi registrado em 26,3% (5/19) dos animais, enquanto no grupo operado associado à ingestão de nitritos, foi encontrado em 72,3% (13/18) dos animais, sendo que neste grupo também foi encontrado seis adenocarcinomas (33,3%). Nenhum animal não operado apresentou o esôfago de Barrett. As categorias 2, 3 e 5 da classificação de Viena somente foram encontradas nos animais operados que ingeriram nitrito de sódio (66,7%). Concluem que a ingestão de nitrito de sódio associado ao refluxo duodeno-esôfago-gástrico têm importante participação na gênese do adenocarcinoma associado ao esôfago de Barrett.

Palavras Chave: Esôfago, Esôfago de Barrett, Nitritos.

The nitrates and nitrites are salts has been using a lot as conservants and chemical additives of foods, that in this current context of accentuated increase of the world population and shortage of foods, they will be used more. On the other hand, the profile of the society is more and more to use industrialized foods ready for consumption, which they utilize several conservants in its elaboration. These salts have harmful action to the organism in specific situations, as demonstrated in many experiments. The gastroesophageal reflux disease has been growing in incidence all over the world mainly in the United States and Europe and related to the alarming indexes of growth of the frequency of carcinomas of the esophagogastric junction. The objective of this research was to analyze the experimental model of duodenum-gastro- esophagic reflux and the ingestion of a solution of sodium nitrite in the genesis of the adenocarcinoma associated to the Barrett's esophagus. Sixty Wistar male rats were divided in four groups: twenty animals controls not operated (10 animals ingested only water and 10 animals ingested water plus sodium nitrite) and forty animals submitted to the side-to-side duodenum-gastro-esophagic anastomosis (20 animals ingested only water and 20 animals ingested water plus solution of sodium nitrite). The Vienna Classification for dysplasia and adenocarcinoma was used in the analysis of the results. After 42 weeks of observation, in the group operated without nitrite ingestion the Barrett's esophagus was found in 26,3% (5/19) of the animals, while in the group operated associate to the nitrite ingestion, it was found in 72,3% (13/18) of the animals, and in this last group it was also found six adenocarcinomas (33,3%). Any animal no operated presented Barrett's esophagus. The categories 2, 3 and 5 of the Vienna Classification were only found in the animals operated that they ingested sodium nitrite (66,7%). The final conclusion is that the ingestion of sodium nitrite associated to duodenum-gastro-esophagic reflux has important participation in the genesis of the adenocarcinoma associated to the Barrett's esophagus.

Keywords: Esophagus, Barrett's Esophagus, Nitrites

1. Introdução

O aumento da população e da longevidade levou à necessidade de desenvolvimento de novas técnicas de produção e conservação de alimentos, visando diminuir o desperdício e otimizar o seu aproveitamento. Entre estes produtos conservantes, os sais de nitrato e nitrito, tanto de sódio, quanto de potássio são mundialmente utilizados, principalmente na conservação de carnes, peixes, legumes, queijos, cereais e enlatados.

Os nitritos e nitratos são substâncias encontradas largamente no solo e em alimentos consumidos pelo homem, além da água potável. Em alguns lugares do mundo, a concentração destes sais é muito alta. É o exemplo de Chile, Colômbia, China e Irã (HOWSON, HYIAMA, WYNDER, 1986; HOTCHKISS 1987). CORREA, HAENSZEL, CUELLO *et al.* descreveram, em 1990, processos pré cancerosos em uma população isolada em Nariño na Colômbia com 1442 habitantes durante período variável de 3 a 16 anos com este componente conhecido popularmente no Brasil por “salitre do Chile”, demonstrando vários graus de agressão gástrica.

A redução bioquímica dos nitratos leva rapidamente à formação de nitritos. Esta redução é facilmente realizada por enzimas bacterianas e também é possível ser realizada dentro do estômago em pH alcalino, desde que haja meio propício, isto é, hipocloridria. (ANDREOLLO, NA - 1994). As bactérias envolvidas neste processo de redução são *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Clostridium spp.*, *Bacteriodes fragilis*, *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus aureus*, micrococcus, além de outras. (CLARK & LITCHFIELD -1973; HILL, HOWKSWORTH, TATTERSALL - 1973; MUSCROFT, DEANE, YOUNGS *et al.* 1981; WATT, SLOAN, DONALDSON *et al.*, 1984; REED, 1986. Desse modo, os nitritos são o princípio ativo e os nitratos servem como reservatórios fornecedores de nitritos.

Os nitritos têm três funções principais; a primeira é quando adicionado a carnes vermelhas, lhes confere coloração rutilante, dando aspecto de frescor; a segunda é agindo como antioxidante e evitando ficarem rançosas quando estocadas por longos períodos e em terceiro lugar, inibirem a toxicidade do *Clostridium botulinum*.

No ser humano, como na maioria dos mamíferos, a concentração maior de nitritos e nitratos é no interior das glândulas salivares. A concentração pode chegar de 6 a 10 mg. de nitrito / litro e de 15 a 35 mg. de nitrato / litro. Esta concentração está na dependência da dieta ingerida. A concentração de nitrito no estômago será tanto maior quanto mais alcalino o pH, ou seja hipoclorídrico ou aclorídrico .(MIRVISH, 1983).

Històricamente as pesquisas de carcinogênese com compostos denominados n-nitrosos iniciaram-se com o trabalho experimental de MATSUKURA, KAWACHI, SASAJIMA *et al.*, 1978, que induziram a metaplasia em estômagos de ratos usando o composto N-Metil-N-Nitro-N-nitroso Guanidine (MNNG) na concentração de 83 µg/ ml, desenvolvendo câncer gástrico entre 60 a 90% naqueles tratados “*ad libitum*” por quatro meses ou mais. Aos 2 meses já se observava acometimento em 25% dos ratos tratados desta forma. Entretanto, já em 1969, SANDER & BURKLE registraram a presença de tumores hepáticos e esofágicos em ratos que receberam N-metil-benzilamina ou aminas junto com nitrito de sódio.

NEWBERNE & SHANK ,1976, administraram nitritos e aminas a ratos Sprague-Dawley e num grupo de 159 ratos tratados com dieta contendo nitrito de sódio 1000 ppm e 1000 ppm de aminas, 156 dos 159 ratos desenvolveram carcinoma hepatocelular. Outros grupos desta mesma espécie que receberam os

mesmos compostos em concentração de nitrito 50 ppm e aminas 1000 ppm, desenvolveram carcinoma de células hepáticas em 4/120 animais.

LIJINSKY & TAYLOR, 1978, descartaram altas concentrações de nitrosaminas encontradas para rações de animais com carne de peixe. Em experimento com 30 ratos Sprague-Dawley que receberam aminopirina + nitrito (1 g/l), todos morreram em 1 ano, sendo 29 destes com hemangiosarcoma endotelial do fígado.

WEISBURGER, MARQUARDT, HIROTA *et al.* em 1980, administraram a ratos wistar, mistura de nitritos com estratos protéicos homogeneizados de um peixe denominado Sanma, muito comum da dieta de região do Japão com elevado risco de câncer gástrico. Observaram que além de mutagênica para Salmonella typhimurium, também induziu aparecimento de adenomas e carcinomas em 6 meses de observação em 8 de 12 ratos tratados. Nenhum tipo de tumor gástrico foi observado nos animais controle neste mesmo intervalo. Os autores afirmam ser muito difícil o aparecimento de tumores gástricos em ratos desta espécie e concluem que o surgimento deles foi decorrente do tratamento feito aos animais.

MIRVISH, BULAY, RUNGE *et al.* em 1980 administraram nitritos a ratos wistar, durante aproximadamente 95 semanas e observaram câncer gástrico em 18% dos animais contra apenas 2% nos animais de controle. A dosagem foi de 3g / litro de água ingerida, num total de 63 g / Kg até o fim do experimento. A outro grupo controle, adicionaram N-Nitroso-L-Prolina, que é um ácido nitrosamínico e reage com nitritos formando um composto N-nitroso, e desta forma observaram câncer em 37 animais, concluindo, portanto, que os nitritos também foram carcinogênicos para o estômago dos animais.

MAEKAWA, OGIU, ONODERA *et al.* em 1982, introduziram tanto nitritos quanto nitratos na dieta e água ingerida por 240 ratos nas concentrações de 2,5% e 5%, e após 56 semanas de observação, constataram presença de carcinomas em vários órgãos, Observaram também a formação de composto n-nitroso somente nos estômagos dos ratos que receberam nitritos e nitratos, estando ausente nos animais controle. A conclusão final, porém, não demonstra diferenças significativas no aparecimento de câncer entre os grupos tratados e controle.

Fatos demonstram inequivocamente que os compostos n-nitrosos, são formados no corpo humano mesmo após ingestão de níveis de seus precursores considerados normais (FRASER, CHILVERS, BERAL *et al.* 1980, PREUSSMANN, 1988). Esses compostos n-nitrosos são um grupo de substâncias orgânicas, resultantes da interação entre nitritos e aminas, formando as nitrosaminas, entre nitritos e amidas, formando as nitrosamidas e os nitritos e uréias, formando as nitrosuréias. Esta nitrosação pode ocorrer em alimentos, “*in vitro*” e “*in vivo*” e têm sido constantemente relacionada ao desenvolvimento de câncer (DRUKREY, STEINHOFF, BUETHNER *et al.*, 1963; PREUSSMANN, 1988; Lancet editorial, 1968; LIJINSKY & TAYLOR, 1970).

Estudos epidemiológicos também já foram realizados e merece destaque o de ZHANG, BING, XING *et al.* 2003, que fazem comparações entre as concentrações de nitrito na água potável ingerida pela população nas províncias de Cixian Country e Chichen Country, na China, correlacionando a maior incidência de câncer esofágico com a concentração mais elevada de nitritos na água ser o triplo na primeira cidade.

Os compostos n-nitrosos produzem tumores em mais de 40 espécies de animais com especificidade celular e orgânica e desde a descoberta da ação carcinogênica da nitrosodimetilamina por MAGEE & BARNES, em 1956, cerca de 200 nitrosaminas já foram identificadas como carcinogênicas em experimentos animais, inclusive com mamíferos, répteis, pássaros, anfíbios e peixes. É muito improvável que o homem seja uma exceção. (CAZOTTES, FRITSCH, GAS *et al.*, 1981; SCHWEINSBERG & BURKLE, 1985; REED, 1986).

PAJECKI, ZILBERSTEIN, SANTOS *et al.*, em 2003, demonstraram que o risco de se desenvolver carcinoma esofágico em pacientes com megaesôfago era tanto maior quanto maior o grau de megaesôfago, correlacionando com o aumento da concentração de bactérias capazes de produzir composto n-nitrosos a partir de nitratos e nitritos da dieta.

Resumindo, os nitratos dos alimentos e da água potável, quando ingeridos são transformados em nitritos por bactérias presentes. Os nitritos que também podem ser provenientes da saliva combinam-se com aminas secundárias presentes nos alimentos e originam compostos n-nitrosos. Esta nitrosação endógena tem sido demonstrada no homem com atividade sobre o organismo.

1.1 REFLUXO ENTERO-GÁSTRICO

Os estudos do refluxo duodeno-gástrico ou entero-gástrico, duodeno-esofágico ou duodeno- esôfago-gastrico, com o sem uso de carcinógenos, têm sido objeto de muitas publicações nas últimas décadas, associando-os à ocorrência de neoplasias gástricas, do coto gástrico, do esôfago e da transição esôfago-gástrica. Abaixo destacamos algumas referências que consideramos relevantes.

LAMBERT em 1962, observou que o refluxo alcalino, principalmente no pancreático, os sais biliares isoladamente não eram capazes de lesões no esôfago distal em ratos, porém os sais biliares são capazes de potencializarem as ações da secreção pancreática.

ATTWOOD, SMYRCK, DeMEESTER *et al.*, em 1992, estudando a interação entre refluxos gastro- esofágico e duodeno-esofágico, associados a nitrosamina, demonstrou desenvolvimento de adenocarcinoma somente quando da combinação do refluxo duodeno-esofágico e nitrosaminas, tanto com DMNM (2,6 Dimethylnitrosomorpholine) quanto com MNAN (methyl-n-amyl nitrosamine).

PERA, TRASTEK, CARPENTER *et al.*, em 1993, demonstraram que 33% dos ratos submetidos a refluxo biliar e pancreático desenvolveram carcinoma de esôfago - 7 adenocarcinoma e 7 escamoso - quando tratados com 2,6 dimethylnitrosomorpholine (2,6 DMNM).

ANDREOLLO (1994), demonstrou em trabalho experimental com ratos gastrectomizados, recebendo “*ad libitum*” soluções de nitrito de potássio na dose de 30 mg/kg/dia a incidência de câncer de 5,6% naqueles submetidos a gastro-jejunoanastomose associado à vagotomia troncular e nos submetidos à gastrectomia à B II associado à vagotomia troncular, num ambiente alcalino, quando comparado ao estômago normal.

1.2 REFLUXO GASTRO-ESOFÁGICO

Embora o registro da ocorrência da doença do refluxo gastro-esofágico (DRGE) tenha se elevado a partir de 1970, principalmente nos países ocidentais, juntamente com maior incidência de adenocarcinoma do esôfago, que chegam a atingir 50% do total dos cânceres do esôfago, a maioria dos doentes com refluxo

são assintomáticos ou têm sintomas leves, sendo que somente 5 a 10% dos pacientes que procuram o hospital por esta queixa necessitam de tratamento cirúrgico anti-refluxo. Por outro lado, também é conhecido que o esôfago de Barrett (EB) aparece após refluxo gastro- esofágico crônico e que pessoas sujeitas a refluxo sintomático repetitivos, tem crescimento de oito vezes a possibilidade de desenvolver adenocarcinoma esofágico (MIWA, SAHARA, SEGAWA, 1996 ; LANGERGREN, BENGSTRON, LINDGREN *et al.*, 1999).

BARRETT, em 1950, descreveu a metaplasia do terço distal do esôfago, com o aparecimento de células colunares especializadas em substituição ao epitélio escamoso habitual deste local, correlacionado ao refluxo gastro-esofágico. O aspecto macroscópico tem coloração salmão. Atualmente, o EB é caracterizado pela presença de epitélio colunar especializado, contendo células caliciformes na forma de línguas (ou ilhas) permeando epitélio estratificado normal. É importante destacar que somente pacientes com epitélio colunar especializado (metaplasia intestinal) têm risco de desenvolver adenocarcinoma. A presença de displasia epitelial, especialmente a de alto grau, é fator para desenvolvimento de câncer. A diferenciação de displasia de alto grau e câncer é muito difícil (GOLDBLUM, 2003). O Colégio Americano de Gastroenterologia, define Esôfago de Barrett (EB) como “Troca do epitélio esofágico normal por metaplasia intestinal que seja identificado por endoscopista e confirmado por biópsia.”(SAMPLINER & SHARMA, 1998). SPECHLER (2003) afirma que a estimativa de desenvolvimento de câncer esofágico em pacientes com Barrett, varia entre 0,2 e 2%, com risco médio aproximado de 1%, além de acometer mais os homens brancos, quando comparados a negros ou asiáticos ou mulheres, e sofrer forte influência de fatores genéticos.

RONKAINEN, ARO, STORKRUBB (2005) demonstraram que 10% dos pacientes com sintomas de DRGE e 1,6% da população normal são portadores se EB.

O aparecimento de adenocarcinoma é demonstrado numa incidência entre 1: 52 até 1: 441 pacientes com EB por ano. (FLÉJOU & SVRCEK, 2007).

Dados epidemiológicos atestam que a maioria de pacientes com EB associado ao adenocarcinoma são homens, brancos com mais de 50 anos (SJOGREN & JOHNSON 1983; SPECHLER & GOYAL, 1986). O risco de adenocarcinoma eleva-se, conforme aumenta a extensão do EB (HIROTA, LOUGHNEY, LAZAS *et al.* 1999). O esôfago de Barrett se desenvolve em aproximadamente 5 a 8 por cento em pacientes com doença do refluxo gastro-esofágico (DRGE) (ROMERO, CAMERON, SCHAIID *et al.* 2002).

Desta maneira podemos deduzir que a extensão e o grau de displasia do EB são determinantes no desenvolvimento do adenocarcinoma da transição esôfago-gástrica.

1.3 MODELOS EXPERIMENTAIS DE REFLUXO

Alguns autores preferem utilizar gastrectomia total ATTWOOD *et al.* (1992), GOLDSTEIN (1997), PERA,GRANDE; GELABERT *et al.* (1998) e outros realizar procedimentos que facilitem o refluxo gástrico, biliar ou bilio-pancreático ao esôfago.

ATTWOOD *et al.* (1992), PERA,TRASTEK, CARPENT *et al.* (1993), MIWA, SAHARA, SEGAWA *et al.* (1996), PERA *et al.* (1998), utilizaram em um grupo de ratos Sprague-Dawley a anastomose duodeno-esôfago-gástrica, e observando os animais durante 30 semanas, registraram apenas um animal com

adenocarcinoma. Entretanto, quando associaram carcinógenos (2-6 dimethylnitrosomorpholine e methyl-n-amyl nitrosamine a outro grupo de animais, também operados pela mesma técnica, registraram elevada ocorrência tanto de carcinoma espinocelular como de adenocarcinoma.

Em estudo experimental detalhado e cuidadoso analisando a especificidade do refluxo esofágico, MIWA *et al.* (1996), não constataram desenvolvimento de adenocarcinoma quando apenas o suco gástrico estava envolvido no refluxo ao esôfago, porém, quando o refluxo duodenal ou gástro-duodenal estavam presentes, esta neoplasia passou a ser registrada.

1.4 METAPLASIA – DIPLASIA- ADENOCARCINOMA

GOLDSTEIN, 1997 e CHEN, YANG, DING *et al.* (1999) utilizaram modelos experimentais de refluxo misto (gástrico e duodenal), sem o emprego de carcinógenos, administrando ferro aos animais, respectivamente, durante 30 e 40 semanas e obtiveram EB com e sem displasia e adenocarcinomas associados. Os dois autores registraram adenocarcinomas mucinosos bem diferenciados e concluíram que os modelos experimentais são consistentes com o que é proposto para a seqüência humana de eventos patológicos de progressão do EB para esôfago de Barrett com displasia e então o adenocarcinoma.

Estudos recentes têm demonstrado que o adenocarcinoma tem como precursor a displasia. E paralelamente à seqüência metaplasia-displasia-adenocarcinoma. Pesquisas têm demonstrado mudanças genéticas e moleculares nas células, motivados por diversos fatores, tais como ativação de oncogenes específicos, inibição de genes supressores de tumores, além de fatores

ambientais (FLÉJOU, 2005; CHANDRASOMA, WIKRAMASINGHE, Ma, 2007; KERKHOF, KUSTERS, van DEKKEN. 2007).

A displasia é definida como uma inequívoca condição pré-maligna e a severidade das anormalidades citológicas e arquiteturais são utilizadas como classificação para a sua graduação. É importante lembrar que **displasia** é simplesmente um termo morfológico e é definido microscopicamente pela substituição por um “inequívoco, porém não invasivo epitélio” (FLÉJOU & SVRCEK, 2007). Segundo estes autores, a tendência é de se trocar este termo por “**neoplasia intra-epitelial**”. A diferenciação entre displasia de baixo grau (DBG) e displasia de alto grau (DAG) depende da distribuição do núcleo, o qual permanece confinado na metade basal das células quando de baixo grau e que se apresenta distribuído aleatoriamente entre as metades basal e apical nas de alto grau. A diferenciação entre displasia de alto grau e carcinoma “*in situ*” é que na displasia de alto grau (DAG) existe respeito pela lâmina própria celular, enquanto que no carcinoma “*in situ*”, penetra pela membrana basal e invade a lâmina própria

1.5 CLASSIFICAÇÃO HISTOLÓGICA

As classificações de displasia no EB são adaptações das utilizadas em outras porções do trato gastrointestinal: leve, moderada ou grave. (GEBOES & Van EYKEN, 2000). Frequentemente há discrepâncias entre os patologistas ocidentais e orientais para classificar o grau de displasia no esôfago de Barrett e por este motivo é que foi proposta em 1998 - posteriormente revisada por DIXON em 2002 - a Classificação de Viena em cinco categorias (FLÉJOU, 2005; GEBOES & Van EYKEN, 2000; SCHLEMPER, RIDDELL, KATO *et al.*, 2000; ODZE, 2006).

A classificação de Viena cataloga as displasias do trato gastrointestinal em 5 (cinco) categorias, abaixo discriminadas na Tabela 1. (SCHLEMPER *et al.*, 2000).

Tabela 1 - Classificação de Viena

CATEGORIA 1	Negativo para displasia. Arquitetura dentro dos limites da normalidade. Ausência de anormalidades nucleares, exceto estratificação nuclear. Maior alteração nuclear quando associado com inflamações ou ulcerações
CATEGORIA 2	Indefinido para displasia. A arquitetura pode estar distorcida moderadamente. Alterações nucleares menos marcantes das que são observadas na displasia
CATEGORIA 3	Displasia de baixo grau (DBG). Arquitetura celular alterada com núcleo se mantendo na metade basal das células
CATEGORIA 4	Displasia de alto grau (DAG). Alterações severas, principalmente se envolvem a superfície mucosa, porém, respeitando a lâmina própria
CATEGORIA 5	Neoplasia invasiva. O carcinoma invade através da membrana basal das glândulas na lâmina própria, porém não invadem a submucosa

No EB com displasia de baixo grau, não há perda de polaridade dos núcleos, há redução do número de células caliciformes, porém o estroma entre as células está presente. A perda da maturação epitelial é caracterizada pela presença de núcleos proporcionalmente maiores na superfície da mucosa. A displasia de alto grau, a perda de maturação epitelial é evidente. Há alteração da arquitetura da mucosa com ramificação das criptas e superfície viliforme. Os núcleos têm maior pleomorfismo e hiperchromasia, as alterações histológicas são similares ao carcinoma intramucoso (RODRIGUES, 2004).

A distribuição de displasias de alto grau pode ser unifocal ou multifocal, podendo dar origem a carcinomas de localizações variadas no esôfago. (DAR, GOLDBLUM, RICE *et al.*, 2003).

1.6 PROGRESSÃO DO ADENOCARCINOMA DO ESÔFAGO

Na atualidade admite-se que o EB é uma condição adquirida, sendo identificado na maioria das vezes na porção distal do esôfago, corroborando o fato de que o refluxo do conteúdo gastroduodenal é fundamental para o seu desenvolvimento.

O EB é o fator de risco mais importante para o desenvolvimento do adenocarcinoma da junção esôfago-gástrica. Estima-se que a incidência de adenocarcinoma no EB seja de **30 a 125 vezes maior** que na população geral, com uma incidência de 0,2 a 2,1% ao ano, ou de 1:52 a 1:441 pacientes novos por ano de seguimento (DREWITZ, SAMPLINER, GAREWAL *et al.*, 1997).

Na última década foi registrado crescimento da incidência de adenocarcinoma esofágico nos países ocidentais, sendo o EB encontrado em 1,6% da população geral (RONKAINEN *et al.* 2005) com evolução natural para displasia de baixo e alto graus em tecido metaplásico e adenocarcinoma em até 1:52 pacientes (FLÉJOU *et al.* 2007). Somando-se a isto, o amplo emprego de soluções conservantes a base de nitrito / nitrato nos alimentos para sua conservação e consumo serem capazes de desenvolverem agressões aos tecidos com alterações importantes com seu uso continuado.

O adenocarcinoma do esôfago tem incidência de crescimento **maior** que tumores do colo-retos, pulmão, próstata e pele (melanoma) nos **últimos 20 anos** em homens brancos no Reino Unido e nos Estados Unidos, sendo que

nestes países, o adenocarcinoma é mais freqüente que o carcinoma espinocelular. Enquanto que no mundo a razão de crescimento do adenocarcinoma é da ordem de 1%, nos EUA e Europa é de 20% .A maioria dos adenocarcinomas se desenvolvem sobre o esôfago de Barrett, que por sua vez é causado pela doença do refluxo gastro-esofágico. A DRGE acomete 20% da população americana, enquanto o EB é encontrado em 5% dos pacientes que se submetem a endoscopia por DRGE. (ODZE, 2008).

Assim, a maior prevalência do esôfago de Barrett e sua indiscutível porcentagem de malignização, a carência de estudos interrelacionando as observações mencionadas e a possibilidade de esclarecer duvidas da interação destes componentes no âmbito clinico e experimental, motivaram a realização de estudos da associação destes dois fatores agressivos à mucosa esofágica quando presentes simultaneamente por longo tempo.Trata-se de pesquisa experimental, pela dificuldade óbvia de seres humanos serem objetos de experimentos e a possibilidade de pesquisa em animais de laboratório servirem como alternativa segura, reproduzível para se obter respostas em relação ao processo carcinogênico. Aliado ao trabalho experimental, que foi o objetivo principal, a extensa revisão bibliográfica, traz ao leitor, atualização inequívoca para conclusões sobre a questão.

2. Objetivo

Os objetivos do presente trabalho de natureza experimental foram de analisar:

- As alterações histopatológicas do esôfago distal de ratos, submetidos ao refluxo duodeno-esôfago-gástrico por longo tempo;
- As alterações histopatológicas produzidas no esôfago distal de ratos, submetidos ao refluxo duodeno-esôfago-gástrico e administração continuada de nitrito de sódio por longo tempo e sua contribuição para o desenvolvimento de displasia e adenocarcinoma;
- Os graus de displasia produzidos no esôfago distal de ratos submetidos ao refluxo duodeno-esôfago-gástrico e ingestão de nitritos, e correlacionar os achados com a classificação de Viena.

3. Material e Métodos

3.1. ANIMAIS

Esta pesquisa recebeu aprovação do Comitê de Ética em Cirurgia Experimental Animal do Instituto de Biologia da Unicamp, sob protocolo número 856-1 de 06/07/2005 e foi desenvolvida no Laboratório de Enzimologia e Carcinogênese Experimental do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) da UNICAMP.

Foram utilizados 60 ratos da raça WISTAR (*Ratus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia), machos, com cerca de três meses de idade e peso variável entre 220 e 320 gr., fornecidos pelo CEMIB, Centro de Bioterismo da UNICAMP, conforme a necessidade da pesquisa e considerados saudáveis e livres de doenças específicas (“S.P.F. Specific Pathogen Free”).

Os animais foram mantidos em temperatura ambiente controlada, em ciclos diurnos de luz, recebendo alimentação espontânea (Purina Nutrimentos Ltda.) e livre por período de cinco dias até o início do experimento.

3.2. GRUPOS DE ANIMAIS e TEMPO DE OBSERVAÇÃO

Os animais foram divididos em quatro grupos distintos.

Grupo 1 (G1) composto por 10 (dez) animais considerados controles e submetidos a dieta padrão e água filtrada, sem cirurgia ;

Grupo 2 (G2) composto por 10 (dez) animais controles mantidos com ração padrão + água filtrada + nitrito de sódio, sem cirurgia;

Grupo 3 (G3) composto por 20 (vinte) ratos submetidos a anastomose duodeno-esôfago-gástrica (ADEG), tratados com ração padrão + água filtrada.

Grupo 4 (G4) composto por 20 (vinte) animais, submetidos a anastomose duodeno-esôfago-gástrica (ADEG) e tratados com ração padrão + água filtrada + nitrito de sódio.

O tempo de observação dos grupos de animais totalizou 42 (quarenta e duas) semanas.

3.3 DROGAS E CONCENTRAÇÕES UTILIZADAS

O nitrito de sódio foi obtido comercialmente (Reagentes Ecibra), na forma de pó e a concentração utilizada foi de 750 mg/litro.

A anestesia dos animais foi com pentobarbital sódico na concentração de 30 mg / kg e manutenção venosa com solução de Ringer-Lactato.

3.4 MATERIAIS CIRÚRGICOS

Os materiais cirúrgicos utilizados nos procedimentos foram

- a) Prancha de cirurgia com fixadores elásticos
- b) Materiais cirúrgicos delicados, utilizados em cirurgia infantil. Bisturi cabo 3 com lâmina 15, Pinças anatômicas e dente de rato com 14 cm de comprimento, tesoura de Metzembbaum 14 cm e tesoura reta com 16 cm, pinças mosquito e porta-agulhas delicado com ponta de vídea, afastador auto-estático infantil.
- c) Fio de polipropileno 6-0 com agulha vascular (cilíndrica curva) de 1 cm para duodeno-esofago-gastroanastomose.
- d) Fio de polipropileno 4-0 para fechamento da parede abdominal do animal
- e) Lupa e foco cirúrgico

3.5 QUANTIFICAÇÃO DO VOLUME DIÁRIO INGERIDO PELOS ANIMAIS

Foram selecionados aleatoriamente 6 (seis) animais com pesos entre 250 e 350 gramas (peso médio de 305 g) e calculada a ingestão diária individual de água filtrada por uma semana, obtendo-se a media de cerca de 40 ml / dia/rato, conforme metodologia utilizada por ANDREOLLO(1994).

3.6 PREPARO DAS SOLUÇÕES

As soluções de nitrito de sódio foram preparadas com água filtrada, na proporção de 750 mg /1000ml, ou seja, 0,75 mg / ml. Considerando que a ingestão média foi de 40 ml/ dia, portanto: $0,75 \times 40 = 30$ mg / rato/ dia.

Durante todo o experimento, foi calculado a quantidade ingerida de nitrito de sódio por animal, sendo: 30 mg / dia / rato ou 210 mg / semana ou no tempo total de 42 semanas $210 \times 42 = 8820$ mg/ rato em média.

3.7 PROCEDIMENTOS REALIZADOS NOS ANIMAIS

Os procedimentos cirúrgicos seguiram a técnica regradada e com respeito à anatomia animal (ROWETT, 1957; WAYNFORTH, 1980).

Conforme padronização, os procedimentos nos animais operados foram:

- a) Os animais foram pesados e acondicionados em gaiolas próprias, contendo no máximo 4 animais em cada uma e devidamente identificados. O tempo de jejum foi de 12 h aproximadamente
- b) Anestesia feita com pentobarbital sódico (30 mg / Kg peso), injetada na veia dorsal da cauda do animal

- c) Colocação em decúbito dorsal sobre a prancha de cirurgia e imobilização dos quatro membros.
- d) Tricotomia dos pelos abdominais
- e) Assepsia abdominal com solução de iodo-povidine.
- f) Colocação de campo fenestrado esterilizado
- g) Abertura mediana da cavidade abdominal, numa extensão aproximada de 3 cm a partir do apêndice xifóide.
- h) Colocação de afastador auto-estático pediátrico para exposição da cavidade.
- i) Doses subseqüentes de anestésico foram ministradas no decorrer da cirurgia, conforme a necessidade individual

3.8 ANASTOMOSE DUODENO-ESÔFAGO-GÁSTRICA

1. Identificação do esôfago, estômago e duodeno
2. Abertura longitudinal de aproximadamente 0,8 cm de extensão na transição esôfago-gástrica com bisturi lâmina 11, sendo 0,5 cm no esôfago e 0,3 cm no estômago, pela suas faces anteriores, seccionando-se, desta forma, o esfíncter inferior do esôfago (EIE) e preservando os nervos vagos anterior e posterior.
3. Mobilização do duodeno de tal modo que possa se sobrepor à área incisada do esôfago e estômago, fazendo abertura longitudinal com a mesma extensão (0,8 cm) na borda contra mesenterial da alça intestinal, distante aproximadamente 3 cm do piloro.
4. Anastomose duodeno-esôfago-gástrica látero-lateral em plano único com fio tipo polipropileno 6-0 com sutura continua, promovendo assim ampla anastomose anisoperistáltica

5. Revisão e limpeza da cavidade e fechamento da parede abdominal utilizando sutura contínua de fio polipropileno 4-0 e em seguida fechamento da pele com pontos intradérmicos com este mesmo fio.

A anastomose duodeno-esôfago-gástrica látero-lateral realizada seguiu o modelo proposto por CHEN *et al.* (1999), conforme Figura1 abaixo, e sua execução demonstrada nas Figuras 2,3 e 4, a seguir.

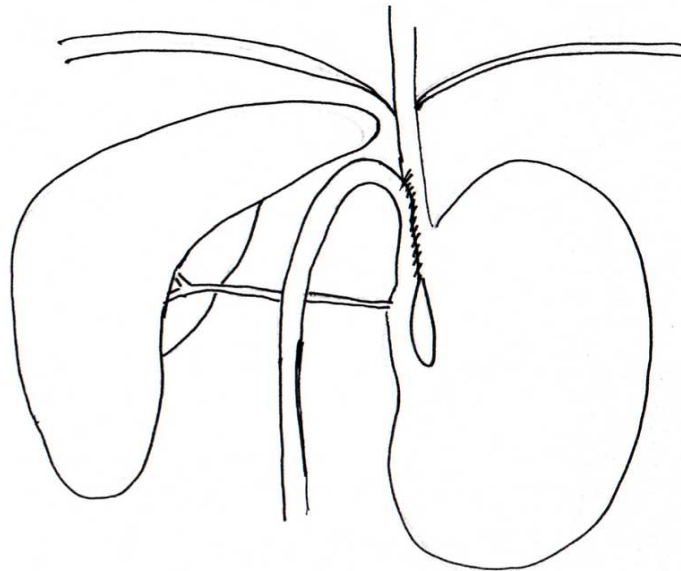


Figura 1: Ilustração da anastomose duodeno-esôfago-gástrica látero-lateral.

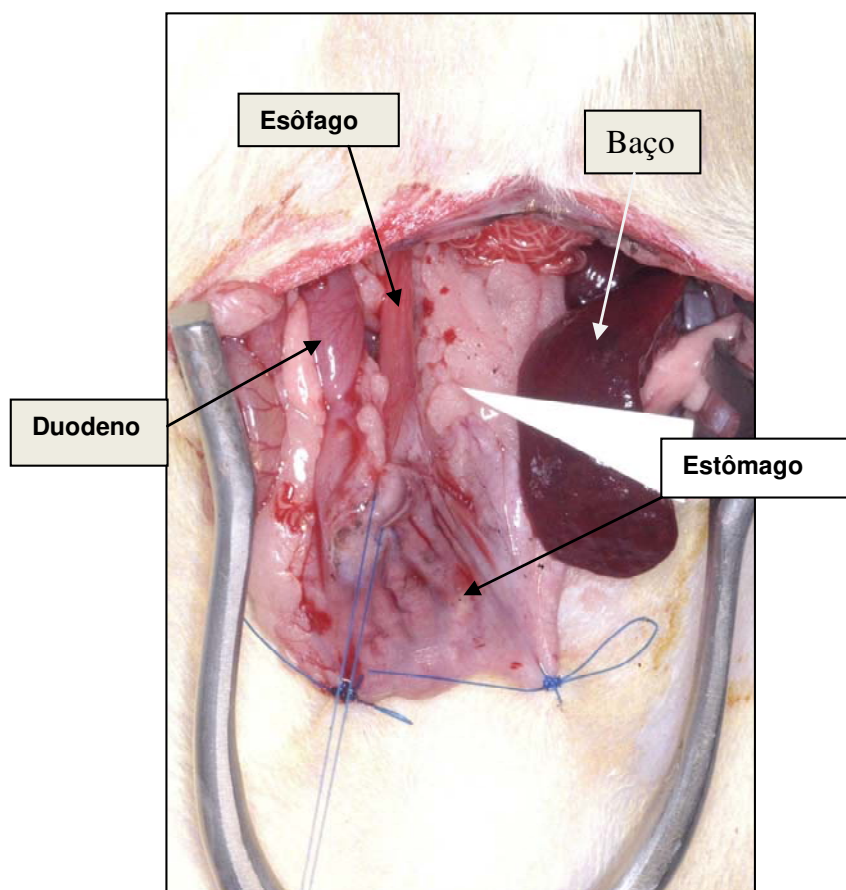


Figura 2: Mostra a anatomia normal do animal, com visão panorâmica do acesso cirúrgico.

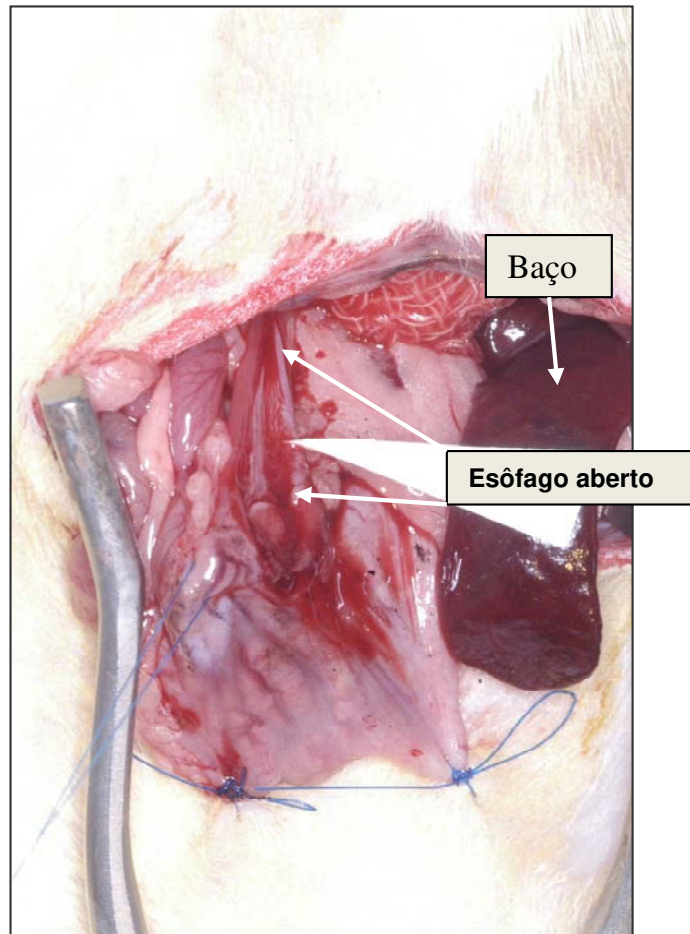


Figura 3: Mostra a exposição da luz da transição do esôfago e estômago, após a abertura da parede anterior longitudinalmente.

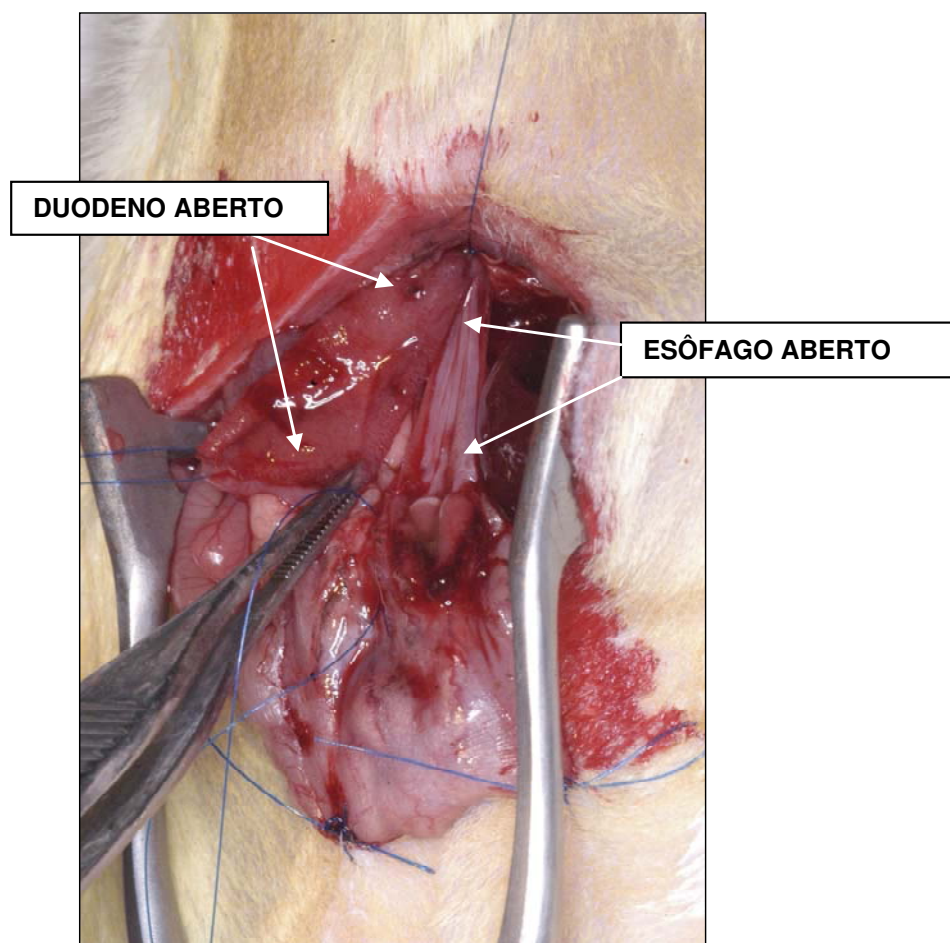


Figura 4: Mostra detalhe da anastomose duodeno-esôfago-gástrica látero-lateral.

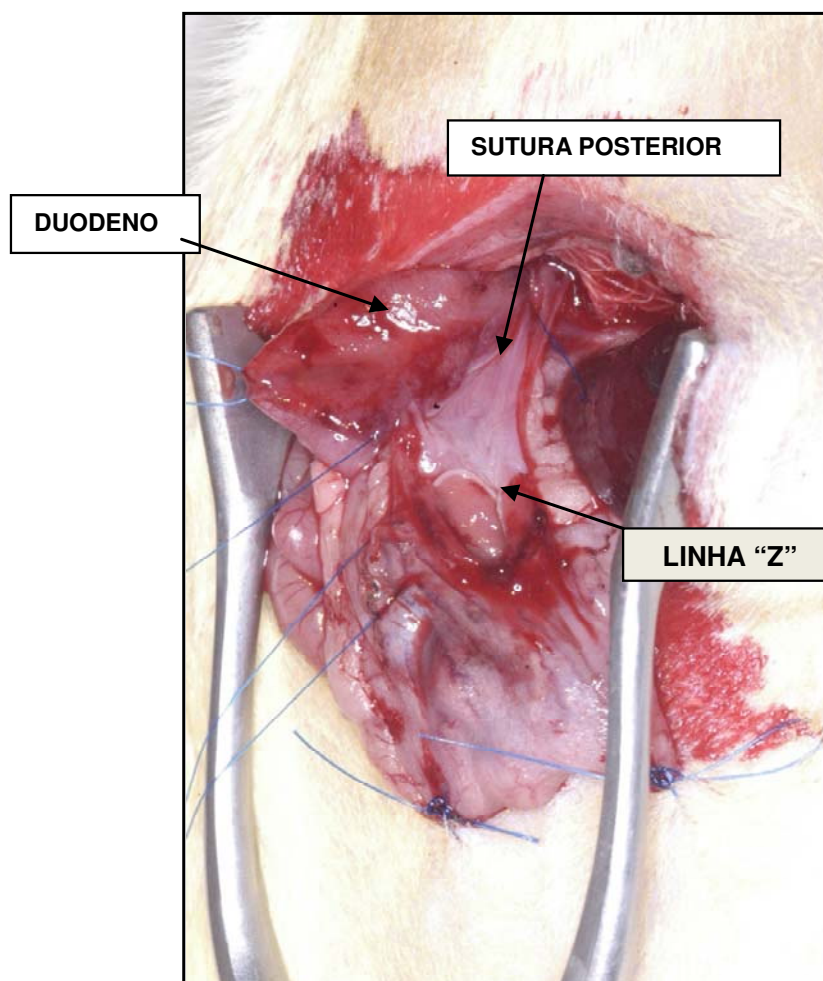


Figura 5: Mostra detalhe do fechamento posterior da anastomose duodeno-esôfago-gástrica. Note-se a nítida diferença da transição esôfago-gástrica (Linha "Z").

3.9 CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Os animais depois da cirurgia permaneceram em suas gaiolas, sendo que após 4 h. foi-lhes oferecido água filtrada “*ad libitum*”, e realimentados com ração normal (Purina Nutrimentos Ltda.) para a espécie após 24 h. Após 72 h. passaram a receber as soluções preconizadas para cada grupo, ou seja G3 água filtrada e G4 água com solução de nitrito de sódio, até o fim do experimento, conforme protocolo estabelecido. O G2 não foi operado e recebeu água filtrada com nitrito por 42 semanas. O G1 não foi operado e recebeu dieta normal + água filtrada durante o mesmo período.

As soluções estavam acondicionadas em bebedouros de vidro, apropriados, devidamente presos à gaiola evitando desperdícios. Os animais receberam exclusivamente esta solução durante o experimento, sendo renovadas a cada dois dias por Técnico de Laboratório do Biotério capacitado para esta tarefa.

3.10 TEMPO DE OBSERVAÇÃO E ESTUDO DOS ANIMAIS

Durante o tempo de observação dos animais até a eutanásia e remoção das peças para estudos histopatológicos, faleceram 3 (três) animais de causas desconhecidas, sendo 1 (um) animal do G3 e 2 (dois) animais do G4. Os demais animais foram observados por 42 semanas.

3.11 CONTROLE DE INGESTÃO DAS SOLUÇÕES

O controle da ingestão de soluções e coleta do volume ingerido em cada gaiola foi feito a cada dois dias pelo Técnico de Laboratório do Biotério do

NMCE, devidamente treinado e orientado. Os volumes ingeridos foram devidamente anotados e em planilha apropriada, calculando-se o volume ingerido por animal. O volume individual foi obtido dividindo-se o volume total ingerido pelo número de ratos em cada gaiola. Os ratos que foram submetidos a ingestão de água sem nitrito, também foi respeitado este procedimento. E desta forma também se obteve a média da ingestão de nitrito de sódio / por rato / por dia, até o fim do experimento.

3.12 COLETA DAS PEÇAS CIRÚRGICAS

Ao término do período de observação e estudo, cada animal foi repesado para obtenção do seu peso final. Em seguida, foram anestesiados, colocados na prancha cirúrgica, imobilizados e tiveram seus abdomens reabertos, com os mesmos procedimentos de técnica cirúrgica já anteriormente relatados. Após a reabertura da cavidade foi feito inventário minucioso, observando-se as vísceras, à procura de quaisquer anormalidades. Foram feitas lises de aderência e bridas eventuais e posteriormente ressecados em bloco, retirando-se desde 1 cm de esôfago proximal à anastomose, o estômago na sua totalidade, até a 2 cm do duodeno distal à anastomose, incluindo portanto toda anastomose duodeo-esôfago-gástrica. Em seguida, a peça foi lavada com soro fisiológico a 0,9% e colocada em cuba.

3.13 ANÁLISE MACROSCÓPICA

As peças foram analisadas externa e internamente. A abertura de todas as camadas deu-se de forma padronizada, através da grande curvatura do

estômago estendendo-se cranialmente no esôfago, de tal forma a se obter plena visão da área da anastomose.

3.14 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Todas as peças cirúrgicas foram fotografadas previamente. O material foi fixado em formalina a 10% durante, pelo menos, 12 horas e submetido a processamento histológico no Laboratório de Anatomia Patológica do NMCE.

Após a fixação em formalina tamponada a 10%, os espécimes foram desidratados em baterias de álcool e xilol. Após diafanação, foram incluídos em parafina, cortados em micrótomo com espessura de 5 mm cada e corados pela hematoxilina-eosina (HE). A análise microscópica das alterações encontradas foi feita pela Profa. Dra. Luciana Rodrigues Meirelles, Professora Assistente Doutora do Departamento de Anatomia Patológica da UNICAMP.

Foi realizada analisando-se a presença de **esofagite** e a sua intensidade (ausente, leve, moderada ou intensa), **metaplasia intestinal** (ausente ou presente), **esôfago de Barrett** (ausente, Barrett sem displasia, com displasia de baixo grau, displasia de baixo grau e adenocarcinoma invasivo) e a **classificação de Viena** (categorias de 1 a 5), sendo que foram feitas as comparações entre os grupos de estudos. Os resultados foram discriminados em tabelas e gráficos.

3.15. METODOLOGIA ESTATÍSTICA

No cálculo da diferença de peso dos animais foi empregado o teste ANOVA, seguido do teste de comparações múltiplas de Tukey. As alterações histopatológicas encontradas nos grupos foram comparadas utilizando o teste Exato de Fisher (ALTMAN, 1991). O nível de significância assumido foi de 5%. O software utilizado para análise foi o SAS versão 9.1.3.

4. Resultados

4.1 PESO DOS ANIMAIS

Foram calculados média, desvio-padrão, valores mínimos e máximos do peso dos ratos estudados, conforme Tabela 2, a seguir:

Tabela 2: Peso dos ratos (em gramas) conforme grupos de estudo

Grupos de ratos	n	Média de pesos	Desvio-padrão	Peso mínimo	Peso máximo
G1	10	535.6	13.83	510	558
G2	10	490.0	8.88	477	505
G3	19	470.58	100.13	342	701
G4	18	427.22	69.62	296	552

Comparações

ANOVA $p=0.0028$ ($p<0,05$)

Teste de Tukey:

G1 X G 3 $p = 0.0016$ – $p < 0,05$

demais comparações entre os grupos - $p > 0.05$

Foram verificadas diferenças significativas ($p = 0,0016$) e o teste de comparações múltiplas de Tukey revelou que os animais de G1 e G3 apresentaram pesos diferentes, e os demais grupos não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$). Embora os animais do G4 apresentassem peso inferior ao G3, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre eles ($p = 0,1222$ – $p > 0,05$).

4.2 ANÁLISE MACROSCÓPICA

Nos grupos G1 e G2 não foram observadas alterações macroscópicas evidentes.

No grupo G3 foi observado alteração de coloração mucosa nos animais 5,14,17 e 19 e presença de hiperemia e edema nos animais 17 e 19.

No grupo G4, foi observado hiperemia leve nos animais 1, 2, 3, 8 e 9. Os ratos 7,12,13 e 17 apresentaram úlceras no local da anastomose (4/18 = 22,2%). Os outros espécimes apresentaram sinais de edema local.

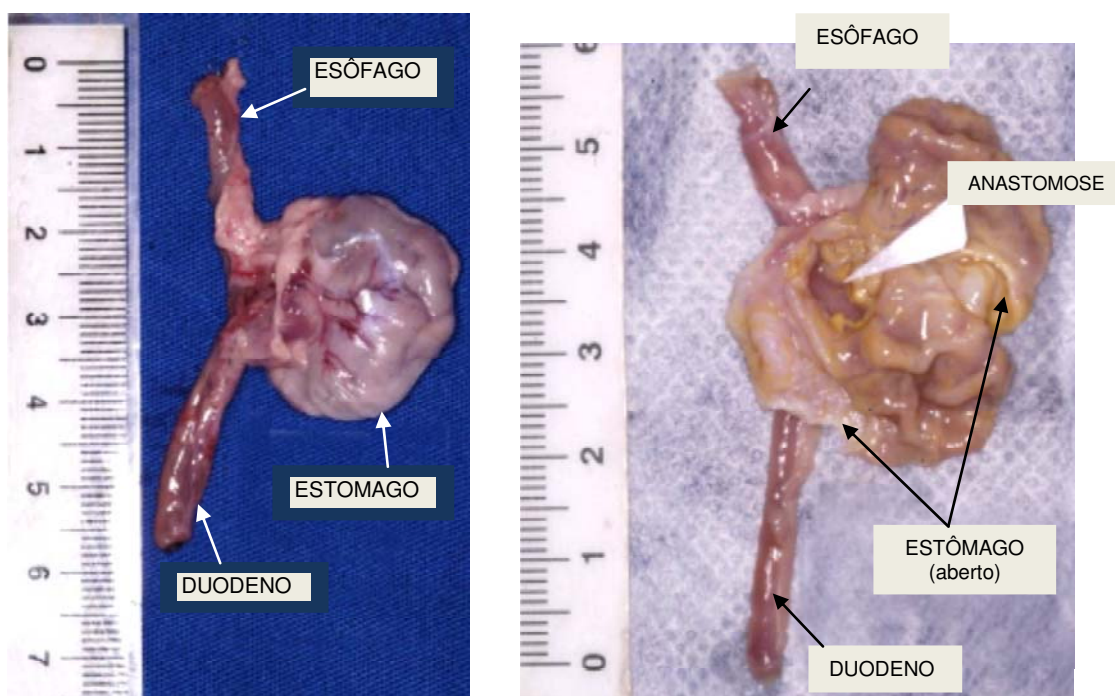


Figura 6 (esquerda) Peça retirada em monobloco e **Figura 7** (direita) Abertura através da grande curvatura, expondo a área de anastomose (seta grande).

4.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA

4.3.1 INTENSIDADE DA ESOFAGITE

A tabela 3 e o Gráfico 1 abaixo resumem as alterações encontradas, conforme os grupos.

Tabela 3: Intensidade da esofagite conforme os grupos

ESOFAGITE	G1 (10 animais)		G2 (10 animais)		G3 (19 animais)		G4 (18 animais)		valor-p
	N	%	N	%	N	%	N	%	< 0.0001
AUSENTE	10	100.0	10	100.0	6	31.6	8	44.4	
LEVE	0	0.0	0	0.0	9	47.4	1	5.6	
MODERADA	0	0.0	0	0.0	2	10.5	0	0.0	
INTENSA	0	0.0	0	0.0	2	10.5	9	50.0	
COMPARAÇÕES		P							
G3 x G2	0.0012	p< 0,05							
G4 x G2	0.0035	p< 0,05							
G3 x G4	0.0017	p< 0,05							

Note-se que no grupo de animais não operados não foi registrado nenhum animal com esofagite (Figura 5). Porém no grupo de operados, com e sem ingestão de nitrato de sódio, foi registrado esofagite em intensidades variáveis. No G3 a esofagite foi ausente em 31,6% dos animais, sendo leve e moderada na maioria deles (57,9%) e intensa em apenas 10,5% (Figura 6). Por outro lado, no G4 a esofagite encontrada foi intensa em 50 % dos animais.

Foram observadas diferenças estatísticas significativas nos grupos operados e os controles. (Tabela 3).

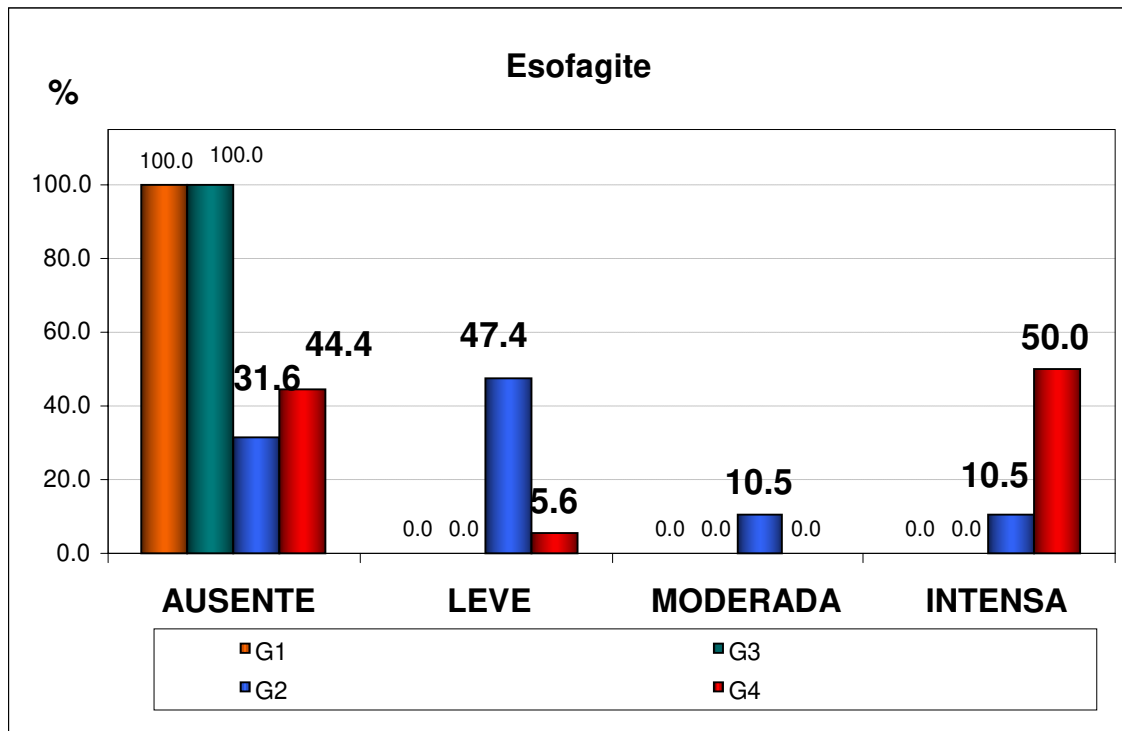


Gráfico 1: Distribuição percentual de esofagite segundo grupos de estudo

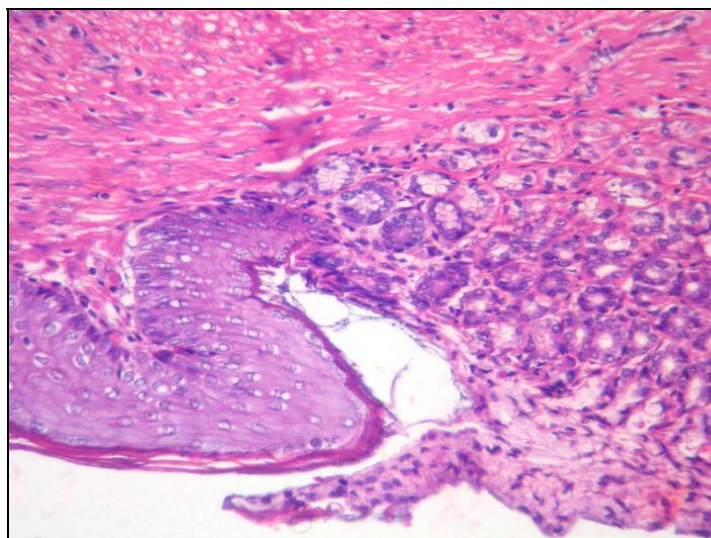


Figura 8: Aspecto histológico do animal 5 do grupo G1, mostrando junção esôfago-gástrica normal (HE 200x)

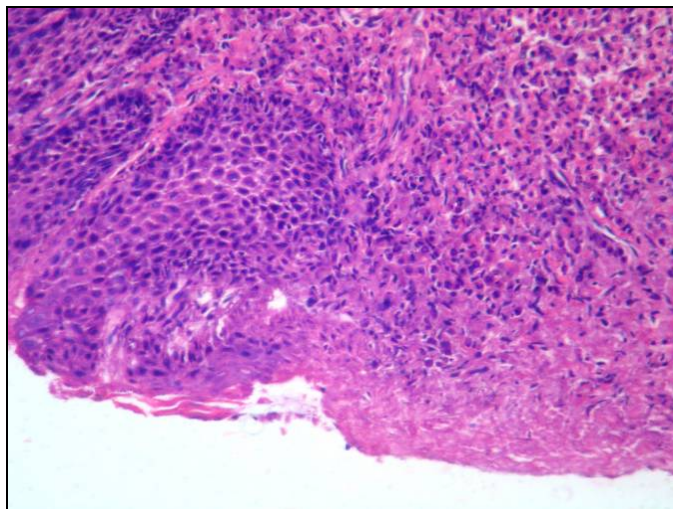


Figura 9: Aspecto histológico mostrando esofagite erosiva Intensa correspondente ao animal 19 do grupo G3 (HE 200x)

4.3.2 METAPLASIA INTESTINAL

A Tabela 4 e o Gráfico 4 resumem as alterações encontradas no grupos.

Tabela 4: A metaplasia intestinal segundo os grupos

METAPLASIA	G1 (10 animais)		G2 (10 animais)		G3 (19 animais)		G4 (18 animais)		P
	n	%	n	%	n	%	n	%	< 0.0001
Ausente	10	100.0	10	100.0	14	73.7	5	27.8	
Presente	0	0.0	0	0.0	5	26.3	13	72.2	

COMPARAÇÕES

P

G3 x G2 0.1336 (p>0,05)

G4 x G2 0.0039 (p<0,05)

G3 x G4 0.0001 (p<0,05)

Notar que nos animais não operados (G1 e G2) não foi encontrado metaplasia intestinal (Gráfico 2). A metaplasia intestinal (Figuras 7 e 8) apenas foi registrada nos animais operados (G3 e G4), respectivamente, 26,3% e 72,2%

Portanto, foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos, sendo que na comparação G3 versus G4 o valor de p foi muito significativo ($p=0.0001$ – $p<0,05$) (Tabela 4).

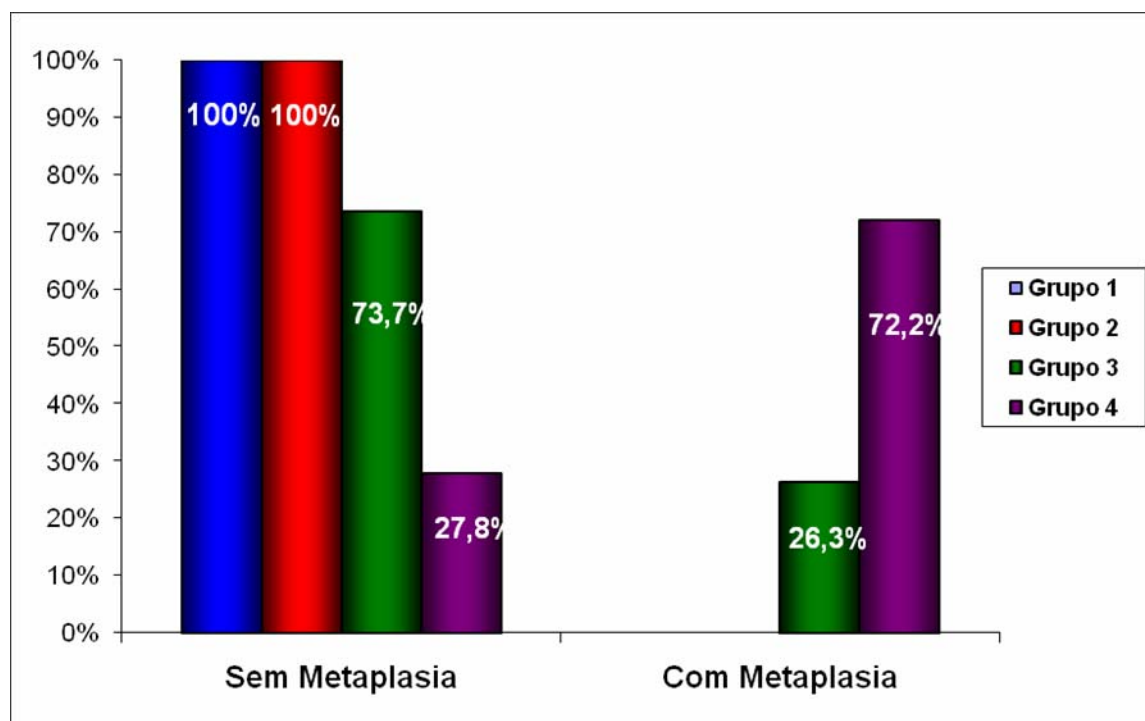


Gráfico 2 – Distribuição percentual de metaplasia segundo grupos de estudo

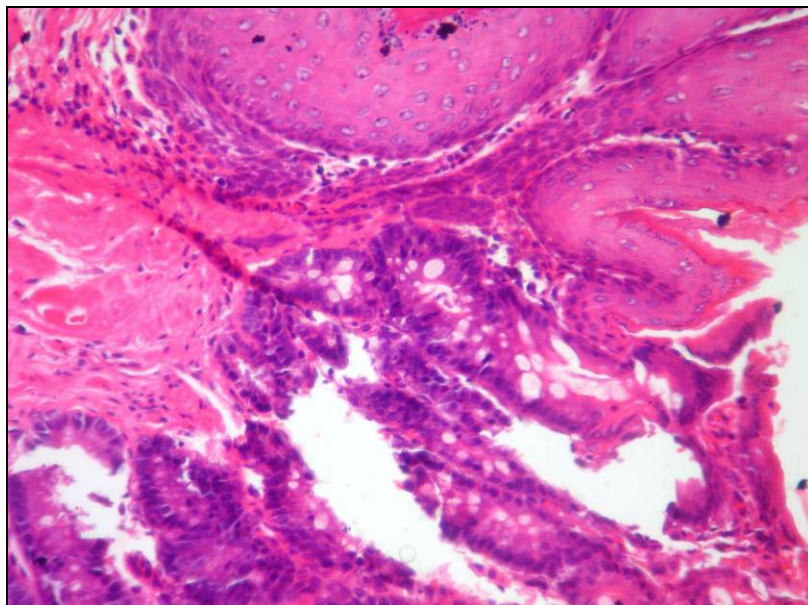


Figura 10: Aspecto histológico mostrando metaplasia intestinal correspondente ao animal 14 do grupo G3. (HE 200x)

4.3.3 ESÔFAGO DE BARRETT, DISPLASIA E ADENOCARCINOMA

A Tabela 5 e o Gráfico 3 resumem os resultados histopatológicos encontrados entre os grupos estudados.

Tabela 5: Estudos histopatológicos nos grupos e análise estatística comparativa.

Estudos histopatológicos	G1 (10 animais)		G2 (10 animais)		G3 (19 animais)		G4 (18 animais)		P < 0.0001
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Sem Barrett	10	(100.0)	10	(100.0)	14	(73.7)	5	(27.8)	
Barrett sem displasia	0	0.0	0	0.0	5	(26.3)	1	(5.6)	
Barrett + DBG	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	(5.6)	
Barrett + displasia indefinida	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	(27,8)	
Barrett + DAG + adenocarcinoma*	0	0.0	0	0.0	0	0.0	6	(33,3)	
Comparações P									
G3 x G2	0.1336	(p>0,05)							
G4 x G2	0.0031	(p<0,05)							
G3 x G4	0.0001	(p<0,05)							

OBS: os resultados histopatológicos do G2 foram idênticos ao G1

* um adenocarcinoma moderadamente diferenciado invadido até muscular, quatro moderadamente diferenciados invadido adventícia e um mucinoso invadido adventícia

Notar que a ocorrência de esôfago de Barrett foi registrada apenas nos grupos operados (G3 e G4). E a displasia de baixo grau, de alto grau e o adenocarcinoma foram encontrados nos animais operados que receberam nitrito de sódio (G4).

Portanto, foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os grupos. Entre os G3 e G2 não houve diferença significativa. E não foi possível definir o grau de displasia em 27,8% dos casos no G4. Em 6 (seis) animais do G4 (33,3%) foram registrados displasia de alto grau e o adenocarcinoma invasivo. Dentre os adenocarcinomas, em 5 (cinco) animais o adenocarcinoma foi moderadamente diferenciado (um invadindo a camada muscular e quadro invadindo até a adventícia) e o último foi adenocarcinoma mucinoso invadindo também a adventícia.

Devemos ressaltar que apenas o fator refluxo não levou à displasia. Foi necessária a presença do nitrito para ocorrer a alteração da arquitetura celular.

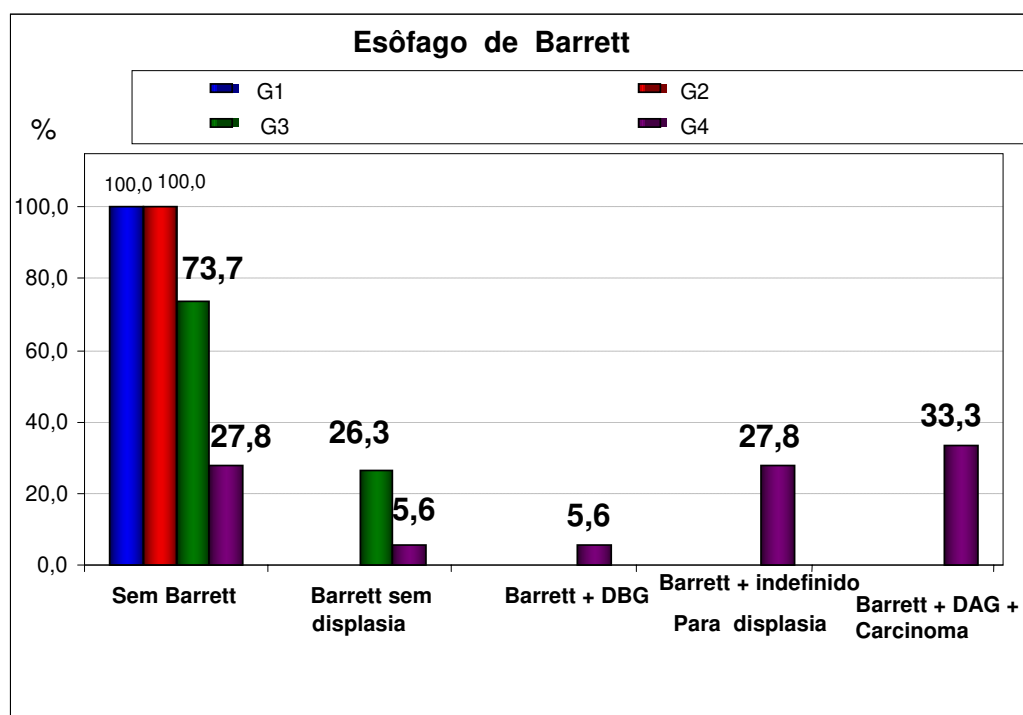


Gráfico 3: Distribuição percentual de esôfago de Barrett segundo grupos de estudo

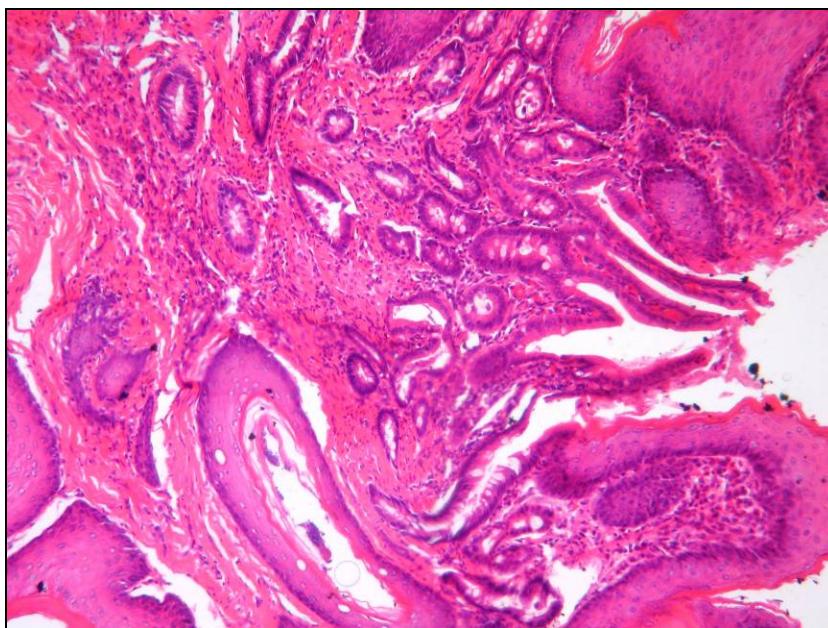


Figura 11: Aspecto histológico correspondente ao animal 11 do grupo G4, mostrando junção esofagogástrica com metaplasia intestinal (mucosa do tipo Barrett) (HE 200 x)

4.3.4 CLASSIFICAÇÃO DE VIENA.

A tabela 6 e o Gráfico 4 resumem os resultados encontrados nos grupos de animais.

Tabela 6 - Classificação de Viena, conforme os grupos de estudo e análise estatística.

CLASSIFICAÇÃO DE VIENA	G1 (10 animais)		G2 (10 animais)		G3 (19 animais)		G4 (18 animais)		p
	n	%	n	%	n	%	n	%	< 0.0001
Categoria 1	10	(100.0)	10	(100.0)	19	(100.0)	6	(33.3)	
Categoria 2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	5	(27.8)	
Categoria 3	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	(5.6)	
Categoria 5	0	0.0	0	0.0	0	0.0	6	(33.3)	
Comparações	P								
G3 x G2	Ns	(p>0,05)							
G4 x G2	0.0015	(p<0,05)							
G3 x G4	0.0001	(p<0,05)							

ns = não significante

Note-se que ocorreram diferenças estatísticas significativas entre os grupos. O G1, G2 e G3 concentraram-se na categoria 1 de Viena (Figura 9), exceto o G4 que mostrou categorias 2, 3 e 5. (Figuras 10, 11, 12 e 13)

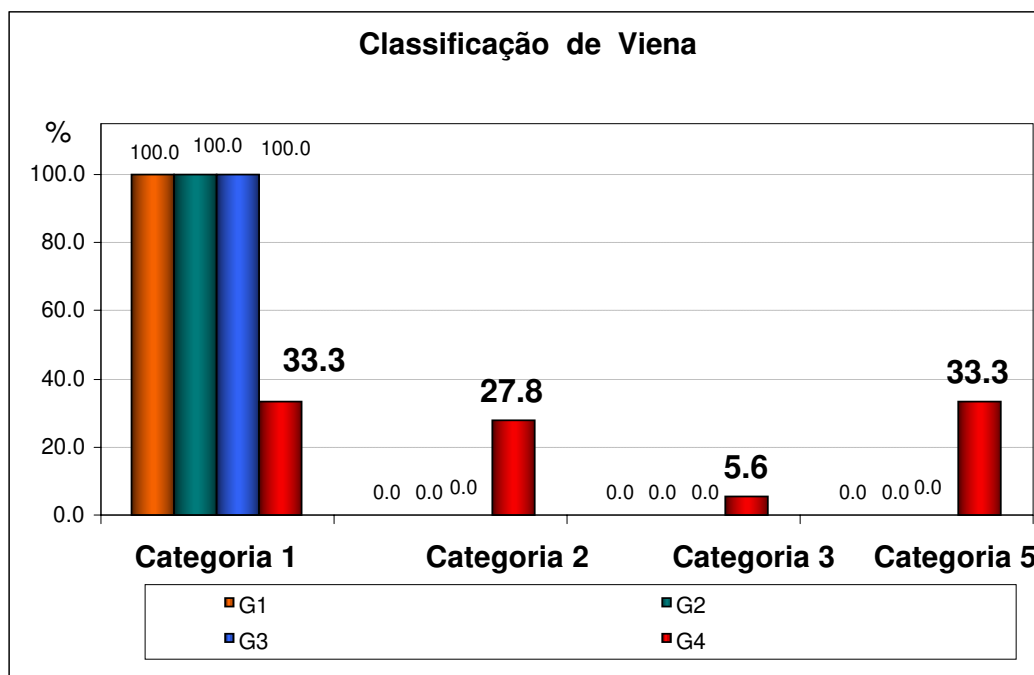


Gráfico 4: Distribuição percentual de categorias VIENA segundo grupos de estudo

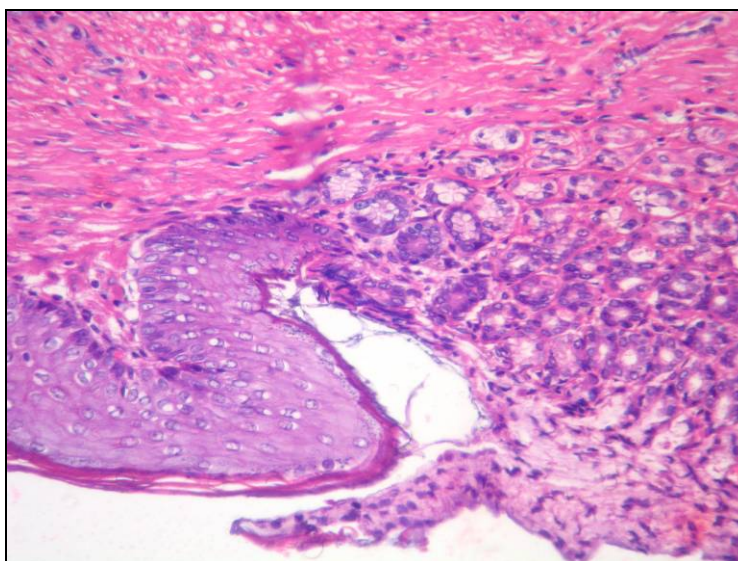


Figura 12: Aspecto histológico correspondendo ao exame do animal 5 do G1 negativo para displasia (Categoria 1 de Viena), HE 100 xs

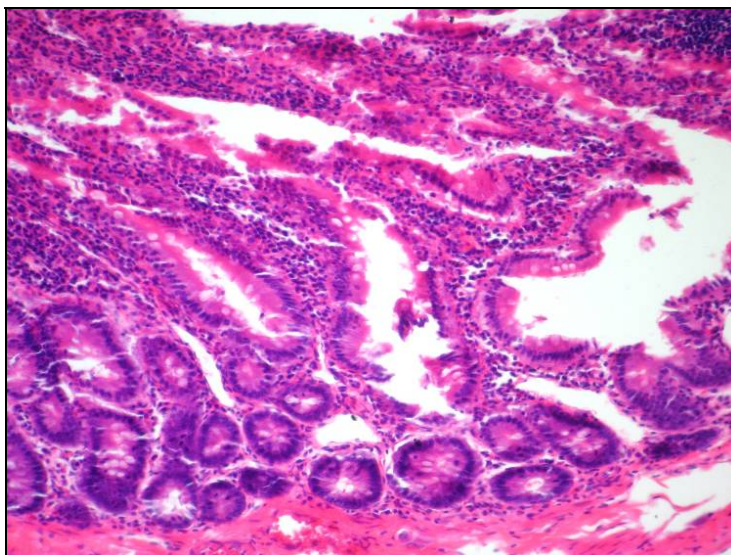


Figura 13: Aspecto histológico correspondendo ao exame do animal 11 do G4 Indefinido para displasia (Categoria 2 de Viena) HE 200 x

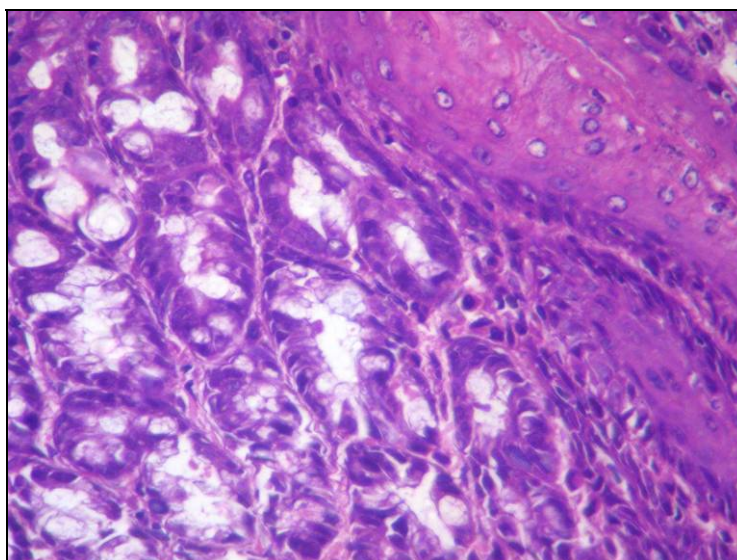


Figura 14: Aspecto histológico correspondendo ao exame do animal 16 do G4, mostrando displasia de baixo grau (DBG) (Categoria 3 de Viena) HE 200 X

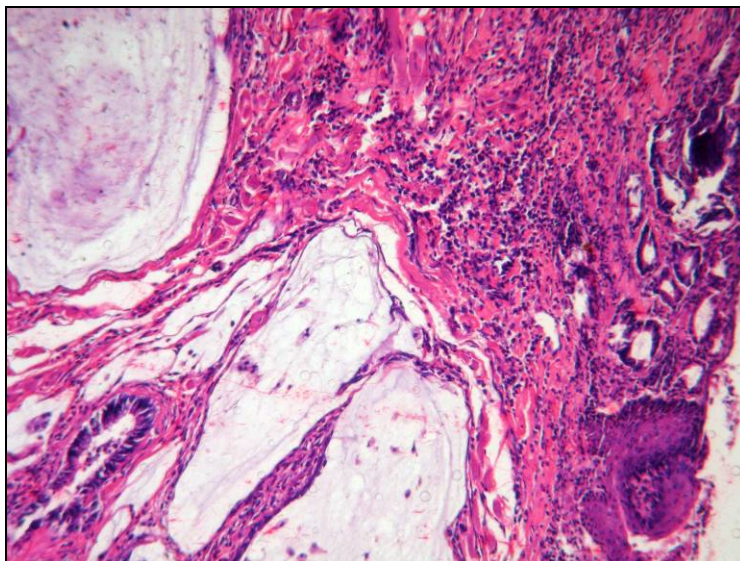


Figura 15: Aspecto histológico panorâmico visualizando epitélio estratificado, epitélio tipo Barrett e carcinoma invasivo correspondente ao rato 13 do G4 (Categoria 5 de Viena) HE 100).

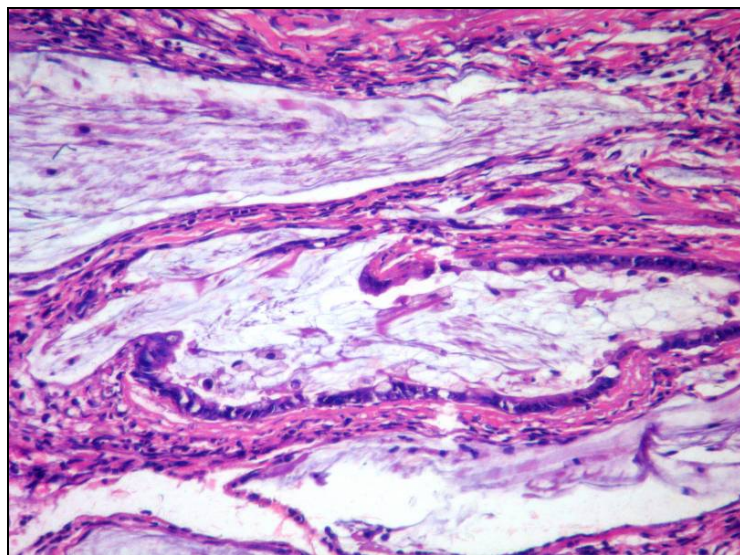


Figura 16: Aspecto histológico correspondendo ao exame do animal 15 do G4 mostrando Neoplasia invasiva (Categoria 5 de Viena) HE 200 x

5. Discussão

A maioria dos estudos de Carcinogênese gástrica e esofágica foram realizados a partir da década de 70 e o animal mais utilizado é o rato ou o camundongo, que, por serem de pequeno porte, podem ser empregados em grande quantidade, ocupando pouco espaço no biotério, diminuindo sobremaneira os custos de manutenção (BRALOW, 1972)

A utilização de modelos experimentais para estudos de etiopatogenia do câncer do aparelho digestivo apresenta dificuldades de ordem técnica na realização dos diversos tipos de procedimentos. São animais de pequeno tamanho, a maioria deles com cerca de 300 gramas de peso, cujo diâmetro das vísceras é bem reduzido, tornando difícil a realização das anastomoses. Além disso, o animal é sensível ao excesso de anestésico, de modo que o pesquisador deve executar o procedimento proposto no tempo mais curto possível, com técnica esmerada, caso contrário o animal não sobreviverá.

O tempo que o animal permanece em observação deve ser longo para que se obtenham os resultados desejados e estes animais têm vida muito curta, ou seja, com freqüência, durante os estudos os animais falecem de morte natural. Ou, devido estarem sendo tratados com carcinógenos químicos potentes, vêm a falecer em decorrência da toxicidade da própria droga.

Os carcinógenos são mais comumente administrados por via oral, embora possam ser empregados também por via parenteral. Na maioria das vezes é dado ao animal junto com a água ingerida ou excepcionalmente adicionado à ração ou outros alimentos. Em decorrência disto, o pesquisador fica obrigado a realizar cálculos exatos de valores e basear-se na quantidade de água ingerida diariamente por animal, durante todo período de estudo e, além disso, controlar a

sua variação de peso para estabelecer as concentrações das drogas em meio aquoso a serem administradas.

Outro aspecto importante a ser lembrado é que as interpretações dos resultados dos testes efetuados dependem do tempo do tratamento e das quantidades e concentrações das drogas ministradas. Assim, estes valores devem ser minuciosamente monitorados para cada animal ou grupo de animais ao longo do estudo e como são estudos de longa duração, não são simples ou fáceis estes controles. Naturalmente que, nas comparações dos resultados entre as várias pesquisas similares para obtenção de conclusões, são fatores que devem ser considerados. (ANDREOLLO, 1994)

POZHARISSKY (1973) demonstrou que o adenocarcinoma não ocorre naturalmente no esôfago de ratos. Os tumores mais comuns encontrados em ratos são papilomas pediculados, geralmente sustentados por um pedículo delgado e outras formas de tumores como os carcinoma “in situ” (de células basais e escamosas). Entre os tumores não epiteliais, encontramos os rabdomiomas e rabdomiosarcomas e os sarcomas que foram induzidos por VALADE em 1937.

Os modelos experimentais de refluxo gástrico e duodenal para produzir esôfago de Barrett e o adenocarcinoma no esôfago são muito conhecidos há anos, utilizando ou não carcinógenos. Alguns autores como ATTWOOD *et al.* 1992; GOLDSTEIN, 1997; PERA, GRANDE, GELABERT, *et al.*, 1998, preferiram utilizar a gastrectomia total e outros realizar procedimentos que facilitem o refluxo gástrico, biliar ou bilio-pancreático ao esôfago.

ATTWOOD *et al.*, 1992; PERA *et al.*, 1993; MIWA *et al.*, 1996; PERA *et al.* 1998 e CHEN *et al.* em 1999, utilizaram em um grupo de ratos Sprague-Dawley a anastomose duodeno-gastro-esofágica, semelhante a que foi utilizada

nesta pesquisa, e observando os animais durante 30 semanas, registraram apenas um animal com adenocarcinoma. Entretanto, quando associaram carcinógenos (2-6-dimethylnitrosomorpholine e methyl-n-amyl nitrosamine) a outro grupo de animais, também operados pela mesma técnica, registraram elevada ocorrência de tanto de carcinoma espinocelular como de adenocarcinoma.

Vários agentes têm sido implicados na predisposição ao desenvolvimento do EB. A secreção ácida talvez seja a mais comumente envolvida, apesar de estudos terem demonstrado que a quantidade de ácido presente no EB é semelhante àquela encontrada nas esofagites graves por refluxo. A secreção duodenal e a alcalinização do esôfago distal têm sido também relacionadas, a partir de pesquisas com animais e em pacientes submetidos a gastrectomia total, confirmando estudos que associaram pH alcalino no esôfago distal a esofagites tão intensas quanto aquelas produzidas pelo ácido. Além disso, há pesquisas que demonstram que o refluxo de ácidos biliares e de enzimas pancreáticas potencializam os danos causados inicialmente pelo ácido ao epitélio esofágico (HIROTA *et al.*, 1999).

A literatura demonstra que o desenvolvimento de adenocarcinoma no EB está associado com a perda de alelos que incluem genes de supressão tumoral. Fortes evidências sugerem que o alvo da perda dos alelos do cromossomo 17p é o gene de supressão tumoral p53, que se encontra ausente ou mutado em vários tumores do aparelho digestivo. O p53 é um componente da transdução celular que responde a danos no DNA celular, impedindo que o ciclo avance além de G1. Células que perdem o p53 atingem a fase S de maneira inadequada e estariam predispostas à instabilidade genômica. Mutações do gene p53 normalmente prolongam a vida média de seu produto, a proteína p53, cuja detecção é possível por meio de estudos imunoistoquímicos ou citometria de fluxo.

A identificação da proteína p53 no adenocarcinoma de esôfago varia de 53% a 87% (FLÉJOU *et al.*, 1993; OBERG, OBERG, CLARK, *et al.* em 1998).

A ação isolada do ácido no esôfago distal não traria prejuízos à mucosa esofagiana, entretanto, combinado à pepsina, os danos à mucosa são substanciais. No momento, as evidências apontam que o refluxo do suco gástrico não é o principal causador da metaplasia intestinal, porém pode ser responsabilizado pelo epitélio colunar. Por outro lado, o suco duodenal, contendo sais biliares, isolecitinas e enzimas pancreáticas certamente tem papel de destaque no desenvolvimento da metaplasia intestinal e sua degeneração maligna. As ações nocivas da tripsina e pepsina sobre a mucosa esofagiana podem estar relacionadas às propriedades proteolíticas de ambas que, em pH adequado, comprometem substâncias intracelulares causando danos significativos às células epiteliais. É conhecido que os sais biliares comprometem a membrana celular e as organelas intracelulares, entretanto, esta alteração parece depender da presença do ácido, o qual atuaria ativando agentes como o pepsinogênio, ou aumentando a capacidade dos sais biliares de penetrarem na mucosa. Assim, a ocorrência de refluxo misto, tanto ácido como alcalino, tem incidência elevada de lesões na mucosa esofágica. Além disso, os sais biliares não conjugados causam maiores danos à mucosa esofágica do que os sais biliares conjugados. A terapia medicamentosa prolongada empregada na supressão de ácido causa hipocloridria e proliferação bacteriana, a qual levaria à desconjugação dos ácidos biliares no estômago. Os ácidos biliares não conjugados habitualmente precipitam em pH ácido, porém, devido à supressão da produção de ácido, permanecem solúveis e, portanto contribuem para agravar a lesão da mucosa esofágica (OBERG, 1998). O estudo dos constituintes do muco do sistema digestivo também tem mostrado

variações que poderiam ser utilizadas como fatores prognósticos no EB (de Faria PC Jr, 2007).

OBERG, JOHANSSON, WENNER, *et al.* em 2001 verificaram em estudos clínicos que a prevalência de células caliciformes (metaplásicas) correspondia a 30% do total das células em pacientes com 1 a 2 cm de esôfago colunar (EB extra-curto), enquanto era de aproximadamente 90% quando o EB atingia extensão de aproximadamente 6cm. (EB longo).

Embora a seqüência displasia de baixo grau - displasia de alto grau - carcinoma seja a mais comum, pode ocorrer evolução direta de metaplasia para carcinoma, como demonstra SCHNELL, SONTAG, CHEJFEC, *et al.* em 2001.

Quanto aos nitritos, a chave para que juntamente com óxidos de nitrogênio formem as substâncias denominadas n-nitroso compostos ou nitrosaminas propriamente ditas, decorre da interação com aminoácidos secundários e terciários. Portanto, o exame de alimentos para detecção da presença de compostos n-nitrosos, tem sido preconizado naqueles que contêm nitritos ou os quais têm sido expostos aos óxidos de nitrogênio (REED, 1986; LIJINSKY, 1999).

Os compostos n-nitrosos promovem o desenvolvimento de carcinomas mediante mutação celular, comportam-se como agentes alquilantes e reagem com proteínas e ácidos nucleicos do DNA celular, além de promoverem modificações nas estruturas das bases púricas e pirimídicas. Desta forma causam profunda alteração tanto no núcleo como nas demais estruturas celulares (LIJINSKY, 1999; JAKSZYN & GONZALEZ 2006).

O tempo de acompanhamento da injúria ao tecido é fundamental nas alterações celulares, por isso foi desenvolvida esta pesquisa com os ratos Wistar,

durante de 42 semanas, equivalendo a 1260 semanas de vida humana (1:30) segundo SIMMS. PECKHAM (1980) e KLEE, HOOVER, MITCHEL *et al.* 1990, referem que 2,5 anos de vida do animal equivalem a 75 anos do ser humano. Portanto em equivalência aproximada, o período de 42 semanas no animal corresponde a 24 anos de seguimento do ser humano.

Este estudo experimental teve por objetivo criar uma situação de refluxo duodeno-esôfago-gástrico crônico com conseqüente aparecimento de metaplasia intestinal, com ou sem displasia, e estudar a influencia do nitrito de sódio por tempo longo, em doses que são utilizadas como conservantes de alimentos, analisando sua interferência. Foi observado que os animais não operados (G1 e G2) não desenvolveram metaplasia intestinal, comprovando ser fundamental que haja refluxo gastro-entérico para que ocorra esta alteração histopatológica.

A associação entre a cirurgia que promove o refluxo com conseqüente banho de refluxo misto gastro- bileo- pancreático, associado ao nitrito promoveu intensa reação tecidual com quadros de esofagite ulcerativa, displasia de baixo e alto graus e adenocarcinoma invasivo, comprometendo 62% das amostras. Portanto, é inequívoco que a agressão ao esôfago terminal foi estatisticamente significativa quando utilizado o nitrito de Sódio em ambiente submetido a refluxo misto crônico.

Nos animais G3 a presença de refluxo duodeno-esôfago-gástrico foi capaz de promover a presença de metaplasia intestinal, porém, não evoluiu para carcinoma. Nos animais submetidos ao refluxo e ingestão de nitrito de sódio (G4), foram constatados tanto a presença de EB com displasia de alto grau, como de adenocarcinoma invasivo. Portanto, nossa hipótese é que o refluxo do conteúdo duodenal e gástrico propiciou o aparecimento do esôfago de Barrett, uma vez que

também os animais operados sem ingestão de nitritos apresentaram 26,3% de ocorrência deste epitélio metaplásico. E o nitrito de sódio pode ter contribuído para a formação de algum composto n-nitroso no modelo experimental (animais G4), o qual por sua vez promoveu o desenvolvimento do adenocarcinoma.

Na revisão de literatura, em estudos clínicos bem conduzidos, CLARK, SMYRK, BURSILES *et al.*, 1994 e CAMERON, LOMBOY, PERA *et al.* em 1995 realizaram estudos microscópicos de tumores da transição esôfago-gástrica e demonstraram áreas de epitélio metaplásico nos adenocarcinomas da região. CLARK *et al.* em 1994, registraram epitélio metaplásico em 42% de tumores da cárdia e em 79% dos tumores localizados no esôfago inferior e 5% dos tumores imediatamente abaixo da cárdia, concluindo que quase 50% dos tumores da cárdia pode ser originária de esôfago de Barrett curto não diagnosticado previamente.

Estudos populacionais demonstram que na Suécia, no período de 1970 a 1985, ocorreu aumento na incidência de câncer da cárdia (em relação a outras regiões do estômago) de 2,5% ao ano para homens e 0,9% para mulheres. Na Europa, nas últimas três décadas em determinadas regiões, também a sua incidência tem dobrado (de 2,8 para 5,2 / 100.000 habitantes. Nos Estados Unidos foi detectada a sua elevação entre 4 a 10% ao ano nos homens.

Além disso, são destacados como fatores etiopatogênicos do câncer da transição esôfago-gástrica o tabagismo com elevação de 4,5 a 7 vezes, o etilismo, ingestão de grande quantidade de alimentos gordurosos, alimentos com conservantes e hereditariedade (SALLUM, 1977; PALLI, BIANCHI, DECARLI *et al.*, 1992; PALLI, GALLI, CAPORASO *et al.*, 1994).

A comparação entre o nosso trabalho e o de demais autores destacados na tabela 7 a seguir, é muito difícil, dado o número de variantes estudadas como, por exemplo, raça, número de animais no estudo, semanas de acompanhamento, tipo do refluxo e via de administração do carcinógeno. Por outro lado, quando se considera o uso ou não de carcinógeno, fica evidente a relação causal com a incidência acentuada de adenocarcinoma independente da via de administração. Neste sentido, destacam-se os de uso oral por sua possibilidade real de ser consumido passivamente.

Tabela 7: Mostra autores que realizaram pesquisas experimentais relacionando o refluxo do conteúdo entérico, associado ou não a carcinógenos e a ocorrência de carcinomas no esôfago.

Autor	Raça dos animais	Tipo de Refluxo e número de animais		Carcinógeno	Semanas de estudo	Carcinoma (número de animais)
Pera <i>et al.</i> (1993)	Sprague-Dawley	RDEG	(22)	2,6-DMNM Sub cutâneo	17	0
		RDE	(27)			9
		RP	(22)			3
Miwa <i>et al.</i> (1996)	Wistar	RDEG	(30)		50	10
		RDE	(30)			10
		RGE	(30)			0
		Y ROUX	(15)			0
Goldsrtein (1997)	Sprague-Dawley	RDE	(145)	NNN água ferro	31	23
Chen X.et al (1999)	Sprague-Dawley	RDEG	(45)	Ferro IP	40	22

2,6 DMNM - 2,6 dimethylnitrosomorpholine; NNN- N-Nitrosomonicotine; (RDEG) Refluxo duodeno-esôfago-gástrico ; (RDE) Refluxo duodeno-esofágico; (RGE) Refluxo gastro-esofágico; (RP) Refluxo pancreático

Nosso estudo envolveu 18 ratos wistar com refluxo duodeno-esofago-gástrico associado a ingestão exclusiva de Nitrito de Sódio em solução a 0,75 mg/ml por 42 semanas, tendo induzido carcinoma em 6 dos 18 ratos.

A classificação de Viena veio para estabelecer um padrão diagnóstico mais uniforme para agressões ao trato digestivo. O termo displasia significa “desvio de desenvolvimento” e foi utilizado originalmente para descrever anomalias no desenvolvimento embriológico. Assim, ele é utilizado nas alterações do desenvolvimento celular que precedem ou acompanham as neoplasias invasivas, principalmente às de origem epitelial (SCHLEMPER *et al.*, 2000; RODRIGUES, 2004).

As displasias são proliferações celulares de caráter não invasivo, que podem preceder ou acompanhar uma neoplasia invasiva. O seu diagnóstico baseia-se fundamentalmente em critérios histopatológicos, os quais incluem alterações estruturais e citológicas, às quais não dão lugar a lesões identificadas macroscopicamente. Todas as classificações atuais de displasia dividem-se em apenas duas categorias: displasia de baixo grau e displasia de alto grau, com o propósito de avaliar-se o risco da lesão e orientação da conduta terapêutica. (RODRIGUES, 2004). A prevalência da displasia no esôfago de Barrett oscila entre 5 e 20% e pode-se observá-la na mucosa plana, a qual é indistinguível endoscopicamente da mucosa com metaplasia intestinal não displásica, ou dar lugar ao aparecimento de lesões polipóides bem visíveis macroscopicamente. (CAUDEVILLA, 2007)

A classificação de Viena pretende estabelecer critérios e diminuir a variabilidade entre os anátomo-patologistas no diagnóstico. No aparelho digestivo, a displasia tem relevância no esôfago de Barrett, na gastrite crônica, nas doenças inflamatórias intestinais e nos adenomas colo-retais. Os critérios de graduação para a displasia são iguais em todas, mas a orientação terapêutica pode variar em função do órgão e do contexto clínico - patológico.

Embora tenha sido descrita há poucos anos, não encontramos na literatura consultada nenhuma publicação de trabalhos clínicos ou experimentais empregando esta classificação relacionando-a à metaplasia – displasia - EB e adenocarcinoma e por este motivo não é possível comparar os resultados desta pesquisa com os de outros autores. Propomos que estudos associando a imunohistoquímica e achados que correspondam aos graus 2,3 e 4 de Viena sejam realizados para possibilidade de escolha de tratamento precoce de lesões do esôfago.

Portanto, os resultados da presente pesquisa permitem concluir que o nitrito de sódio associado ao refluxo duodeno-esôfago-gástrico tem importante participação na gênese do adenocarcinoma associado ao esôfago de Barrett.

Os hábitos de vida atuais de grande parte da população ativa e nas atividades diárias de trabalho não têm mais tempo hábil a ser despendido para refeições regradas cotidianas, que incluem alimentos à base de cereais bem cozidos, legumes, carnes de boa procedência, frutas frescas e sucos naturais. Consomem-se muitos alimentos em conserva, mal cozidos, à base de lanches e refeições rápidas e outras bebidas os quais, na maioria das vezes, certamente contêm conservantes à base de nitritos em quantidades variadas. Além disso, estas "refeições rápidas" com nitritos como conservantes em doentes que apresentam refluxo gastroesofágico associado ao esôfago de Barrett, podem propiciar ao aparecimento do adenocarcinoma da transição esôfago-gástrica.

Tendo em vista os motivos acima discutidos, muitas pesquisas clínicas e experimentais têm sido realizadas com o objetivo de associar o refluxo gástrico e duodenal à ocorrência de adenocarcinoma do esôfago e transição esôfago-gástrica. O adenocarcinoma da transição esôfago-gástrica constitui afecção que

por uma série de particularidades, crescente incidência, ocorrência em zona de transição de órgãos e cavidades, peculiar disseminação linfática, bem como dificuldades na sistematização do seu tratamento, merece avaliação individualizada (SALLUM, 1977). E torna-se necessário ainda a realização de muitas pesquisas clínicas ou experimentais para elucidação dos fatores envolvidos na sua etiopatogenia.

Concluimos que novos estudos devam ser feitos, porém, maior atenção aos pacientes com EB e hábitos alimentares que privilegiem o uso de alimentos com estes conservantes.

6. Conclusões

A análise dos resultados da presente pesquisa experimental permitiram as seguintes conclusões:

6.1 O refluxo duodeno-esôfago-gástrico por longo tempo promoveu o desenvolvimento esofagite (68,4%) e metaplasia intestinal (26,3%) característica de esôfago de Barrett no esôfago distal

6.2 O nitrito de sódio associado ao refluxo duodeno-esôfago-gástrico por longo tempo, promoveu o desenvolvimento de esôfago de Barrett com displasia de baixo grau (5,6%) e alto grau com adenocarcinoma invasivo (33,33%).

6.3 Houve correlação entre os achados de displasia de baixo e alto grau e as categorias da classificação de Viena.

7. Referências Bibliográficas

Altman DG. Pratical Statistics for Medical Research. London: Ed. Chapman & Hall; 1991:1-661.

Andreollo,NA. Contribuição à Etiopatogenia do Câncer do Coto Gástrico; Estudo Experimental [tese Livre-Docência]. Campinas (SP): Universidade Estadual de Campinas; 1994.

Attwood SEA, Smyrck TC, DeMeester TR, Mirvish SS, Stein HJ, Hinder R A Duodeno-esophageal reflux and the development of esophageal adenocarcinoma in rats. Surgery, 1992; 111 (5):503-09.

Barrett NR .- Chronic Peptic Ulcer of the Esophagus and Oesophagitis. Br J Surg. 1950; 38: 175-182.

Bralow SP Experimental Gastric Carcinogenesis. Digestion, 1972; 5: 290-310.

Cameron AJ, Lomboy CT, Pera M, Carpenter HA Adenocarcinoma of the esophagogastric junction and Barrett's esophagus. Gastroenterology 1995; 109: 1541-6.

Caudevilla AS - Evaluation of dysplasia in gastrointestinal diseases. Gastroenterol Hepatol. 2007; 30:602-11.

Cazottes C, Fritsch P, Gas N, Blaquat GS. Nitrates et Nitrites: Impact Nutrititionnels chez le Rat Ann Nutr Metab 1981; 25: 182-193.

Chandrasoma P, Wickramasinghe K, MA Y, DeMeester T.- Is intestinal metaplasia a necessary precursor lesion for adenocarcinomas of the distal esophagus, gastroesophageal junction and gastric cardia? Dis Esophagus 2007; 20: 36–41.

Chen X, Yang G, Ding WY, Bondoc F, Curtis SK, Yang CS - An esophagogastrroduodenal anastomosis model for esophageal adenocarcinogenesis in rats and enhancement by iron overload. Cacinogenesis. 1999; 20(9):1801-08.

Clark DG, Litchfield MH Role of Inorganic Nitrite in Methemoglobin Formation after Nitrite Ester Administration to the Rat. *Brit J. Pharmacol* 1973; 48: 162-8.

Clark GW, Smyrk TC, Burdiles P, Hoeft SF, Peters JH, Kiyabu M, Hinder RA, Bremner CG, DeMeester TR Is the Barrett's metaplasia the source of adenocarcinomas of the cardia? *Arch Surg* 1994b; 129: 609-14.

Correa P; Haenszel W; Cuello C; Zavala D; Fontham E; Zarama G; Tannenbaum S; Collazos T; Ruiz B - Gastric precancerous process in a high risk population: cohort follow-up. *Cancer Res.* 1990; 50 (15): 1737-40.

Dar MS, Goldblum JR, Rice TW, Falk GW Can Extent of High Grade Dysplasia in Barrett's Oesophagus Predict the Presence of Adenocarcinoma at Oesophagectomy? *Gut* 2003; 52: 486-9.

De Faria PCJr; Andreollo NA, Trevisan MA, Lopes LR Relationship of the sialomucins (Tn and Stn antigens) with adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Rev Assoc Med Bras* 2007; 53(4):360-4.

Dixon MF Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut* 2002.;51: 130-1.

Drewitz DJ, Sampliner RE, Garewal HS The incidence of adenocarcinoma in Barrett's Esophagus: A prospective study of 170 patients followed 4,8 years. *Am J Gastroenterol*, 1997; 92:212-215.

Dukrey H, Steinhoff, D, Buethner H, Scheinder H, Klarner P Prufung von Nitrit auf Chronisch Toxische Wirkung an Ratten. *Arzneimittel-forsch* 1963, 13:320-3.

Fléjou JF, Potet F, Muzeau F, Le Pelletier F, Fekete F, Henin D Overexpression of p53 protein in Barrett's syndrome with malignant transformation. *J Clin Pathol*, 1993; 46: 330-3.

Fléjou JF Barret's esophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer. *Gut* 2005; 54(Suppl):i6-i12.

Fléjou JF, Svrcek M Barrett's Oesophagus- a Pathologist's View. Histopathology. 2007; 50: 3-14.

Fraser P, Chilvers C, Beral V, Hill MJ Nitrate and Human Cancer: A Review of the Evidence. Int J Epidemiol. 1980; 9: 3-11.

Geboes K & Van Eyken P. The diagnosis of dysplasia and malignancy in Barrett's oesophagus. Histopathology 2000;37:99-107.

Goldblum JR Barrett's Esophagus and Barrett's-Related Dysplasia" Mod Pathol. 2003; 16(4): 316-324.

Goldstein SR - Development of esophageal metaplasia and adenocarcinoma in a rat surgical model without the use of carcinogen. Carcinogenesis, 1997; 18(11):2265-70.

Hill MJ, Howksworth GM, Tattersall G. Bacteria, Nitrosamines and Cancer of The Stomach. Brit J Cancer. 1973; 28: 562-7.

Hirota, WK , Loughney TM, Lazas DJ, Maydonovitch CL, Rholl V, Wong RK, Specialized Intestinal Metaplasia, Dysplasia and Cancer of the Esophagus and Esophagogastric Junction: Prevalence and Clinical Data. Gastroenterology. 1999; 116:277-85.

Hotchkiss JH A Review of Current Literature on N-Nitroso Compounds in Foods. Adv. Food Res. 1987; 31: 55-115.

Howson CP, Hiyama T, Wynder EL. The Decline in Gastric Cancer: Epidemiology of an Unplanned Triumph. Epidemiol. 1986; 8: 1-27.

Jakszyn P, Gonzalez CA, Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. World J Gastroenterol 2006; 12(27):4296-303.

Kerkhof M, Kusters JG, van Dekken H, Kuipers EJ, Siersema PD - Biomarkers for risk stratification of neoplastic progression in Barrett esophagus. *Cell Oncol.* 2007; 29(6):507-17.

.Klee LW, Hoover DM, Mitchel EM, Rink RC Long Terms Effects of Gastrocystoplasty in Rats. *J Urol.*, 1990; 144: 1286.

Lambert R Relative Importance of Biliary and Pancreatic Secretions in the Genesis of Esophagitis in rats. *Am J Dig Dis.* 1962; 7(II):1026-1033.

Lancet Nitrites, Nitrosamines and Cancer. *Lancet* editorial 1968; 1071.

Langergren J, Bengstrom R, Lindgren A, Nyren O Symptomatic Gastro Esophageal Reflux as a Risk Factor for Esophageal Adenocarcinoma. *N England J. Med.*1999; 340: 825-3.

Lijinsky W, Epstein SS - Nitrosamines as enviromental Carcinogens. *Nature, Lond.* 1970 ; 225: 21.

Lijinsky W, Taylor HW Relative Carcinogenic Effectiveness of Derivatives of Nitrosodiethylamine in Rats. *Cancer Res.* 1978; 38: 2391-4.

Lijinsky W N-Nitroso compounds in the diet. *Mutat Res.*1999; 443(1-2):129-38.

Magee, P, Barnes J M The Production of Malignant Primary Hepatic Tumors in Rat feeding Dimethylnitrosamine. *Brit J Cancer.* 1956; 10: 114-122.

Maekawa A, Ogiu T, Onodera H, Fukuta K, Matsuoka C, Ohno Y, Odashima S Carcinogenicity Studies of Sodium Nitrite and Sodium Nitrate in F-344 Rats. *Fd Chem Tox.* 1982; 20: 25-33.

Matskura N, Kawachi T, Sasajima K, Sano T, Sugimura T, Hirota, I Induction of Intestinal Metaplasia in Stomach of Rats by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. *J Natl. Cancer Inst.* 1978; 61: 141-4.

Mirvish SS, Bulay G, Runge RG, Patil K Study of the Carcinogenicity of Large Doses of Dimethylnitrosamine, N-Nitroso-L-Proline, and Sodium Nitrite Administred in Drinking Water to Rats J.Natl. Cancer Inst. 1980; 64: 1435-42.

Mirvish SS The Etiology of Gastric Cancer: Intra gastric Nitrosamine Formation and Others Theories. J Nat Cancer Inst. 1983; 71: 629-47.

Miwa K, Sahara H, Segawa M, Kinami S, Sato T, Miyasaki I, Hattori T Reflux of Duodenal or Gastro-Duodenal Contents Induces Esophageal Carcinoma in Rats. Int. J. Cancer. 1996; 67: 269-274.

Muscroft TJ, Deane SA, Youngs D, Burdon DW, Keighley MRB The Micro flora of the Postoperative Stomach. Brith J Surj.1981; 68: 560-64.

Newberne, P.M.; Shank, R.C.. - Dose-response study of the carcinogenicity of dietary sodium nitrite and morpholine in rats and hamsters. Food Cosmet Toxicol.1976; 14(1):1-8.

Oberg S, Clark GW, DeMeester TR.- Barrett's Esophagus. Update of Pathophysiology and Management. Hepato-Gastroenterology.1998; 45: 1348-1356.

Oberg S, Johansson J, Wenner J, Johnsson F, Zilling T, von Holstein CS, Nilsson J, Walther B - Endoscopic surveillance of columnar-lined esophagus: frequency of intestinal metaplasia detection and impact of antireflux surgery. Ann Surg.2001; 234:619-626.

Odze R.D.- Diagnosis and grading of dysplasia in Barrett's oesophagus. J Clin Pathol. 2006; 59: 1029-1038.

Odze RD Update on the Diagnosis and Treatment of Barrett Esophagus and Related Neoplastic Precursor Lesions Arch Pathol Lab Med.2008; 132: 1577-85

Palli D, Bianchi S, Decarli A, Cipriani F, Avellini C, Cocco P, Falcini F, Puntoni R, Russo A, Vindigni C. A case-control study of cancers of the gastric cardia in Italy. Br. J. Cancer. 1992;65: 263.

Palli D, Galli M, Caporaso NE, Cipriani F, Decarli A, Saieva C, Fraumeni JF Jr, Buiatti E - Family history and risk of stomach cancer in Italy Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1994; Vol. 3 (1), 15-8.

Pajecki D, Zilberstein B, Santos MAA, Quintanilha AG, Ceconello I, Gama-Rodrigues J -Microbiota do Megaesôfago e Carcinogênese. Arq. Gastroenterol 2003; 40(1):16-19.

Pera M, Trastek VF, Carpenter HA, Fernandez PL, Cardesa A, Mohr U, Pairolero PC - Influence of Pancreatic and Biliary Reflux on the Development of Esophageal Carcinoma. Ann. Thorac. Surg. 1993; 55: 1386-93.

Pera M, Grande L, Gelabert M, Figueras X, Palacín A, Elena M, Cardesa A, Tiburcio AF, Trastek VF - Epithelial cell hyperproliferation after biliopancreatic reflux into esophagus of rats. Ann Thorac Surg 1998 ; 65:779-86.

Peckham J C Experimental Oncology. Chapter 6. In "The Laboratory Rat" Edited by Baker, H.J.; Lindsey J.R.; Weisbroth, S.H.New York: Academic Press1980; vol 2, chapt. 6, p 119.

Preussmann R Nitrite und Nitrate in der Nahrung und in Wasser. Biblthca. Nutr. Dieta 1988; 41: 66-75.

Pozharissk,i KM Pathology of Tumours in Laboratory Animals 1973volume 1, part 1, 87-94, International Agency for Research on Cancer.

Reed PI. The Role of Nitrosamines in Cancer Formation. Biblthca Nutr Dieta. 1986; 37:130-8.

Rodrigues, MAM.- Esôfago de Barrett e displasia: critérios diagnósticos. J Bras Patol Med Lab. 2004; 40(3):185-191.

Romero Y, Cameron AJ, Schaid DJ, McDonnell SK, Burgart LJ, Hardtke CL, Murray JA, Locke GR 3rd - Barrett's esophagus: prevalence in symptomatic relatives. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1127-32.

Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, Johansson SE, Lind T, Bolling-Sternevald E, Vieth M, Stolte M, Talley NJ, Agréus L - Prevalence of Barrett's Esophagus in the General Population: an Endoscopic Study. *Gastroenterology* 2005; 129:1825-31.

Rowett, H.G.Q.- Dissection guide. III. The rat. Holt, Rinechart and Winston, New York 1957; 1-64.

Sallum RAA – Adenocarcinoma da Cárdia. Resultados do tratamento cirúrgico fundamentado na topografia tumoral. Tese de Doutorado, USP, 1977

Sampliner RE; Sharma P - Practice Guidelines on the Diagnosis, Surveillance and Therapy of Barrett's Esophagus. *Am J Gastroenterol*. 1998; 93:1028-31.

Sander J; Bürkle G. - Induction of malignant tumors in rats by simultaneous feeding of nitrite and secondary amines. *Z Krebsforsch*. 1969; 73(1):54-66.

Schlemper RJ; Riddell RH; Kato Y; Borchard F; Cooper HS; Dawsey SM; Dixon ME; Fenoglio-Preiser CM; Fléjou JF; Geboes K; Hattori T; Itabashi M; Iwafuchi M; Iwashita A; Kim yi; Kirchner T; Klimpfinger M; Koike M; Lauwers GY; Lewin KJ; Oberhuber G; Offner F; Price AB; Rubio AB; Shimizu M; Shimoda T; Sipponen P; Solcia E; Stolte M; Watanabe H; Yamabe H The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut*. 2000; 47(2):251-5.

Schnell TG, Sontag SJ, Chejfec G, Aranha G, Metz A, O'Connell S, Seidel UJ, Sonnenberg - A Long-term surgical management of Barrett's esophagus with high grade dysplasia. *Gastroenterology*. 2001; 120:1606-1619).

Schweinsberg F, Bürkle V – Nitrite: A Co-Carcinogen? *J Cancer Res Clin Oncol*. 1985; 109: 200-2.

Simms HS - Longevity Studies in Rats. I. Relation Between Life Span and Age of Onset of Specific Lesions. In "Pathology of Laboratory Rats and Mice" (E.Cotchin and F.J.C. Roe, eds.), 1967 pp 733-747. Davis, Philadelphia, Pennsylvania.

Sjogren RW, Johnson LF .- Barrett's Esophagus: a Review. Am J Med 1983; 74:3131-40.

Spechler SJ, Goyal RK, Barrett's Esophagus. N Engl. J Med.1986; 315:362-71.

Spechler SJ- The Natural History of Dysplasia and Cancer in Esophagitis and Barrett Esophagus J. Clin Gastroenterol. 2003; 36 (Suppl. 1): S2-S5.

Valade P. Recherches sur L'activité Cancérigène du Méthylcholanthrène. CR Acad. Sci. Paris 1937; 204:1281-82.

Valade P. Recherches sur L'activité Cancérigène du Méthylcholanthrène. Bull Ass Franc Cancer. 1937; 26: 452-469.

Watt PCH, Sloan JM, Donaldson JD, Patterson CC, Kennedy TL.-. Relationship Between Histology and Gastric Juice pH and Nitrite in the Stomach after Operation for Duodenal Ulcer. GUT 1984; 25: 246-52.

Waynforth HB Experimental and surgical technique in the rat. Academic Press,London 1980; 1-263.

Weisburger JH, Marquardt H, Hirota N, Mori H, Williams GM Induction of cancer of the glandular stomach in rats by an extract of Nitrite-treated Fish. J Natl. Cancer Inst 1980; 64: 163-7.

Zhang XL, Bing Z, Xing Z., Chen ZF, Zhang JZ, Liang SY, Men FS, Zheng SL, Li XP, Ba IXL.- Research and control of well water pollution in high esophageal cancer areas. World J Gastroenterol. 2003; 9(6):1187-90.

Apêndice

APÊNDICE 1

COMPOSIÇÃO DA RAÇÃO DOS ANIMAIS:

Nuvilab^R CR-1 auto clavável - 20 kg

Composição:

milho integral moído, farelo de soja, farelo de trigo, carbonato de cálcio, fosfato bicálcico, cloreto de sódio, premix vitamínico mineral, aminoácidos.

umidade máxima-12% proteína bruta-(min.) 22% extrato etéreo-(min.) 4,0%

Níveis de garantia

matéria mineral- (Max) 10%

cálcio-(Max) 1,4%

matéria fibrosa-(Max)8%

fósforo-(min.) 0,6%

ENRIQUECIMENTO POR KILO DO PRODUTO

Vitaminas

Vit. A - 25.200 UI

Vit. K3 - 12,5 mg.

Vit. B6 - 12 mg.

ácido pantotéico - 112,0 mg.

biotina - 0,26 mg.

Vit. D3 - 2.100 U.I.

Vit.B1 - 14,4 mg.

Vit. B12 - 60 mcg.

Vit. C - 60 mg.

Vit.B2 - 11 mg.

Niacina - 60,0 mg.

ácido fólico - 6 mg.

colina - 1100 mg.

Micro elementos minerais

ferro - 50 mg.

cobre - 10 mg.

cobalto - 1,5 mg.

manganês - 50 mg.

iodo - 2 mg.

zinco - 60 mg.

selênio - 0,05 mg.

Aminoácidos e Aditivos

lisina- 100 mg.

DL metionina - 300 mg.

antioxidante - 100 mg.

APÊNDICE 2

PESO DOS RATOS

Tabela 8: Peso, em gramas, dos ratos, após 42 semanas

GRUPO 1	GRUPO 2	GRUPO 3	GRUPO 4
546	488	451	436
535	491	536	495
547	477	348	522
558	501	385	552
537	486	501	502
529	480	452	485
533	497	345	424
520	485	364	420
541	490	442	431
510	505	415	427
		560	428
		485	336
		658	296
		450	402
		701	396
		552	303
		342	391
		500	444
		454	
Água	Água+nitrito	Cir. + água	Cir. + água + nitrito

APÊNDICE 3

DESCRIÇÃO DOS ACHADOS HISTOLÓGICOS

3.1 - Achados histológicos – Descrição das Lâminas do grupo G1

GRUPO 1 (G1) - controle – Sem cirurgia + ingestão de Água .

Animais n= 10	Achados Histológicos
1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 (10/10)	Área de transição escamo – glandular esôfago – gástrica com aspecto histológico habitual Categoria 1 Viena Barrett 0 Adenocarcinoma 0

3.2 - Achados histológicos – Descrição das Lâminas do grupo G2

GRUPO 2 (G2) - controle – Sem cirurgia + Água com Nitrito de Sódio

Animais n=10	Achados Histológicos
1,2,3,4,5,6,7,8,9,10 (10/10)	Área de transição escamo – glandular esôfago – gástrica com aspecto histológico habitual Categoria 1 Viena Barrett 0 Adenocarcinoma 0

3.3 - Achados histológicos – Descrição das Lâminas do grupo G3

GRUPO 3 (G3) - Duodeno-esôfago-gastroanastomose + Água

Animais n=19	Achados Histológicos
11,12,13,15,16,18 6/19	Ausência de epitélio metaplásico. Ausência de esofagite; Categoria 1 Viena
2, 3, 4, 6, 7 5/19	Ausência de epitélio metaplásico. Esofagite crônica ativa leve, Categoria 1 Viena
5 1/19	Ausência de epitélio metaplásico. Esofagite crônica ativa moderada Categoria 1 Viena
1, 8, 9, 10 4/19	Mucosa do tipo Barrett, sem displasia. Esofagite crônica leve. Categoria 1 Viena
14 1/19	Mucosa do tipo Barrett sem displasia Esofagite crônica ativa moderada. Categoria 1 Viena
19 1/19	Ausência de epitélio metaplásico. Esofagite erosiva intensa, Categoria 1 Viena
17 1/19	Ausência de epitélio metaplásico. Esofagite ulcerativa intensa; Categoria 1 Viena
	Sem Barrett 14/1 Com Barrett 5/19 Barrett c/ Adenocarcinoma 0

3.4 - Achados histológicos – Descrição das Lâminas do grupo G4.

GRUPO 4(G4) - Duodeno-esôfago-gastroanastomose + Água com Nitrito de Sódio

Animais n= 18	Achados Histológicos
1, 2, 3, 8, 9 (5/18)	Ausência de epitélio metaplásico. Ausência de processo inflamatório. Categoria 1 Viena
6 (1/18)	Mucosa tipo Barrett sem displasia. Esofagite erosiva Categoria 1 Viena
16 (1/18)	Mucosa do tipo Barrett com displasia de baixo grau. Esofagite ulcerativa intensa. Categoria 3 Viena
4,11 (2/18)	Mucosa tipo Barrett com atipias epiteliais indefinidas para displasia/ neoplasia Categoria 2 Viena
5,14,18 (3/18)	Mucosa tipo Barrett com atipias epiteliais indefinidas para displasia/ neoplasia; esofagite ulcerativa intensa. Categoria 2 Viena
10 (1/18)	Adenocarcinoma moderadamente diferenciado, em áreas, mucinoso (invade até muscular própria), em mucosa do tipo Barrett; áreas de displasia de alto grau associadas. Esofagite ulcerativa intensa. Categoria 5 Viena
7, 12, 13, 17 (4/18)	Adenocarcinoma moderadamente diferenciado (invade até a adventícia) em mucosa do tipo Barrett; área de displasia de alto grau, associada. Esofagite ulcerativa intensa. Categoria 5 Viena
15 (1/18)	Adenocarcinoma mucinoso extenso (invade até adventícia) em mucosa do tipo Barrett; áreas de displasia de alto grau associadas. Categoria 5 Viena
	Sem Barrett 5/18 Com Barrett 13/18 Barrett com adenocarcinoma 6/18

