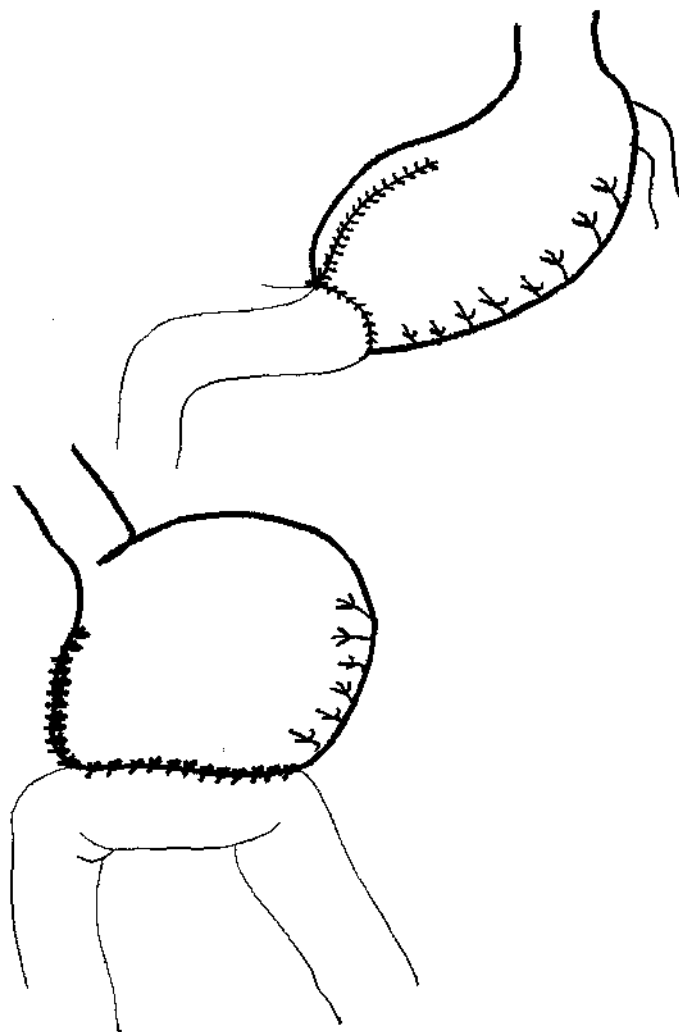


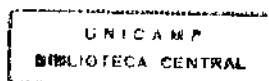
NELSON ADAMI ANDREOLLO

**CONTRIBUIÇÃO À ETIOPATOGENIA
DO CÂNCER DO COTO GÁSTRICO.
ESTUDO EXPERIMENTAL.**



**Tese de Livre-Docência,
Área de Gastroenterologia Cirúrgica,
Departamento de Cirurgia da
Faculdade de Ciências Médicas
UNICAMP**

**CAMPINAS - SP
1994**



CM-00066241-9

UNIVERSIDADE	BC
RE. CAMPUS	T/UNICAMP
	An 25c
V. Ex.	
TOMBO BC	23784
PROG.	433/95
	<input checked="" type="checkbox"/>
	R\$ 11,00
	10/03/95

FICHA CATALOGRÁFICA ELABDRADA PELA
BIBLIOTECA CENTRAL - UNICAMP

Andreollo, Nelson Adami
An25c Contribuição à Etiopatogenia do Câncer do
Coto Gástrico: Estudo Experimental / Nelson Adami
Andreollo. -- Campinas, SP : (s.n.), 1993.
Tese (livre docência) - Universidade Estadual
de Campinas - Faculdade de Ciências Médicas.
1. Neoplasias gástricas. 2. Gastrectomia.
3. Gastroenterostomia. 4. Nitratos. 5. Nitritos.
6. Compostos nitrosos. I. Universidade Estadual
de Campinas - Faculdade de Ciências Médicas.
II. Título.

20. CDD - 616.994
617.553
617.554
553.64
547.044
547.041

Índices para Catálogo Sistemático

1. Neoplasias gástricas 616.994
2. Gastrectomia 517.553
3. Gastroenterostomia 617.554
4. Nitratos 553.64
5. Nitritos 547.044
6. Compostos nitrosos 547.041

À minha esposa CRISTINA,

pelo estímulo,

amor e

compreensão

A meus filhos, AUGUSTO e RAFAEL

\A meus pais, PAULO e OLINDA

Pelo exemplo de esforço e

dedicação à vida

" É uma superficialidade de nossos tempos
crer que a ciência e a arte se contrapõem;
a imaginação é a mãe de ambas "

THEODOR BILLROTH (1882)

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Luiz Sergio Leonardi, líder e criador de uma Escola Cirúrgica, exemplo a ser seguido de dedicação à vida universitária, o mestre e amigo de sempre, pela orientação e incentivo à minha carreira acadêmica e formação científico-profissional, pelo apoio fundamental à realização desta Tese.

Ao Professor Nelson Ary Brandalise a minha sincera gratidão pela amizade, pelo exemplo de conduta, pela orientação e incentivo à minha formação profissional e acadêmica, pelo apoio e conselhos inestimáveis em todos estes anos:

Ao Professor Francisco Gomes de Alcantara, do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Biologia da UNICAMP pelo estímulo, valiosa colaboração e sugestões na análise e interpretação dos exames e alterações histopatológicas desta pesquisa. Ao Professor Norair S. Reis, do mesmo Departamento, pela ajuda irrestrita na realização das fotografias microscópicas.

A Professora Miriam Aparecida Silva Trevisan, do Departamento de Anatomia Patológica, pela colaboração na realização dos cortes histológicos e lâminas para os estudos microscópicos.

Ao Professor Reginaldo Ceneviva, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, pelos conselhos inestimáveis na elaboração deste trabalho.

A Rosana Celestina Morandim Ribeiro de Paiva, bióloga do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da FCM - UNICAMP, pela valiosa colaboração e auxílio nos

cálculos e diluição das drogas utilizadas, bem como nos cuidados com os animais nas fases experimentais deste trabalho.

Ao William Adalberto Silva, biólogo, Ana Cristina de Moraes, Maria Madalena A. Rodrigues, Gomes Sarmiento Alvin e Antonio Lopes, técnicos do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental pelo imprescindível auxílio nos cuidados com animais.

Ao Senhor Sergio V. Schneider pela assessoria na elaboração da análise e cálculos estatísticos.

A Senhora Vilma Proide, do Setor de Apoio Técnico e Didático da FCM - UNICAMP, pela colaboração na confecção dos desenhos do presente trabalho. A Senhorita Noelandy Castro Jiménez e Senhor Pedro Jiménez pelo auxílio na realização de fotografias. Ao Emilton Barbosa de Oliveira e a Renata Maia pela ajuda nos recursos de informática.

Ao Professor Luiz Roberto Lopes, pela amizade e colaboração, dividindo as tarefas diárias de ensino e assistência, para que este trabalho fôsse finalizado e concretizado.

A Maria Kiyoko Aoki Kac e Maria Lucia Ide Aoki, secretarias do Departamento de Cirurgia pela valiosa colaboração nos trabalhos de datilografia.

Aos demais colegas da Disciplina de Moléstias do Aparelho Digestivo e do Departamento de Cirurgia, que direta ou indiretamente colaboraram na elaboração deste trabalho.

ÍNDICE

	Pag.
I - INTRODUÇÃO	1
I.1. EPIDEMIOLOGIA DO CÂNCER GÁSTRICO, RELAÇÃO COM NITRITOS, NITRATOS e COMPOSTOS N-NITRO- SOS E ALIMENTOS ENVOLVIDOS.....	8
I.2. A CARCINOGENICIDADE de NITRITOS, NITRATOS e COMPOSTOS N-NITROSOS.....	12
I.3. REFLUXO BÍLIO-PANCREÁTICO e CÂNCER do COTO GÁSTRICO	18
I.4. OCORRÊNCIA de NITRITOS, NITRATOS e COMPOSTOS N-NITROSOS no ESTÔMAGO OPERADO	22
I.5. PESQUISAS EXPERIMENTAIS de INDUÇÃO de CÂNCER do COTO GÁSTRICO	26
I.6. OBJETIVOS	31
II - MATERIAL	33
II.1. ANIMAIS	34
II.2. GRUPOS DE ANIMAIS	34
II.3. DROGAS UTILIZADAS	35
II.4. SOLUÇÕES e CONCENTRAÇÕES UTILIZADAS.....	36
II.5. MATERIAIS CIRÚRGICOS	36
III- METODOLOGIA	38
III.1. QUANTIFICAÇÃO do VOLUME DIÁRIO INGERIDO pelos ANIMAIS	39
III.2. PREPARO de SOLUÇÕES	39
2.1. Cálculo das Concentrações de Nitrito e Nitrito	40
2.2. Cálculo da Concentração de Composto N-nitroso	40

	Pag.
III.3. PROCEDIMENTOS REALIZADOS nos ANIMAIS	41
3.1. Gastrotomia	42
3.2. Gastroenteroanastomose com Vagotomia Troncular	42
3.3. Gastrectomia a BILLROTH II com Vagoto- mia Troncular	43
3.4. Gastrectomia a Y de ROUX com Vagotomia Troncular	44
III.4. CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS	50
III.5. TEMPO DE OBSERVAÇÃO e ESTUDO dos ANIMAIS....	50
III.6. CONTROLE DE INGESTÃO DAS SOLUÇÕES	50
III.7. COLETA DAS PEÇAS CIRÚRGICAS	53
7.1. Análise Macroscópica das Peças	54
7.2. Exérese de Fragmentos para Análise Mi- croscópica	55
7.3. Análise Microscópica	55
III.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA	55
IV - RESULTADOS	56
IV.1. TEMPO de OBSERVAÇÃO dos ANIMAIS	57
IV.2. CONTROLE de PESO dos ANIMAIS.....	58
IV.3. QUANTIDADES INGERIDAS das SOLUÇÕES e de ÁGUA	64
IV.4. ANÁLISE MACROSCÓPICA do ESTÔMAGO OPERADO....	69
IV.5. ANÁLISE MICROSCÓPICA do ESTÔMAGO OPERADO....	76
V - DISCUSSÃO	93
V.1. O RISCO de CÂNCER do COTO GÁSTRICO.....	94
V.2. A DOENÇA GÁSTRICA PRÉVIA e o RISCO DE CÂNCER.	97
V.3. O TIPO de RECONSTRUÇÃO e o CÂNCER do COTO GÁSTRICO	98
V.4. VAGOTOMIA e CÂNCER DO COTO GÁSTRICO	100

	Pag.
V.5. A CARCINOGENESE GÁSTRICA EXPERIMENTAL e suas DIFICULDADES	102
V.6. A CARCINOGENESE EXPERIMENTAL DO COTO GÁSTRICO	105
V.7. ATIVIDADE BIOLÓGICA dos COMPOSTOS N-NITROSOS.	108
V.8. AS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NO COTO GÁS- TRICO.....	111
V.9. COMENTÁRIOS FINAIS	123
VI - CONCLUSÕES	129
VII - RESUMO	132
VIII- SUMMARY.....	137
IX - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	142
X - APÊNDICE	161

I

INTRODUÇÃO

Aproximadamente um século após a primeira ressecção gástrica ter sido realizada, suspeitas têm sido levantadas de que a gastrectomia parcial introduzida por BILLROTH (1881) pode predispor ao desenvolvimento de câncer no coto gástrico remanescente. A gastrectomia para tratar úlcera péptica tem sido mais amplamente utilizada a partir de 1930, principalmente a que utiliza a reconstrução tipo BILLROTH II (VISTE et al., 1986).

O câncer do coto gástrico foi descrito pela primeira vez por BALFOUR em 1922, ocasião em que ele também analisou os fatores que influenciavam a expectativa de vida de doentes operados de úlcera gástrica e úlcera duodenal. ORRINGER em 1950, publicou os primeiros relatos sobre o câncer que aparece na boca anastomótica e antes desta época a entidade era considerada uma raridade e as publicações registravam apenas casos esporádicos.

Em 1954, KUHLMAYER & ROKITANSKY analisaram retrospectivamente 50.000 autópsias na Universidade de Viena e de 363 casos com ressecção gástrica, tanto a BILLROTH I (BI) como a BILLROTH II (BII), encontraram 40 casos (11%) de câncer entre estes pacientes. HELSINGEN & HILLESTAD em 1956 na Escandinávia, estudaram retrospectivamente 229 pacientes com ressecção gástrica durante 1919 e 1944 e encontraram 11 casos (4,8%). Em 1962 BOECKL & LILL coletaram 328 casos da literatura e DONY et al. em 1973 na Bélgica conseguiram reunir 500 casos publicados entre 1932 e 1971. Em 1968, novamente HILBE et al. analisando cerca de 20.000 casos de necropsias, encontraram incidência de 8,2% nos doentes gastrectomizados. MORGENSTERN et al., em 1973 referem ter contado cerca de 1100 casos e, em 1979, PEITSCH & BECKER conseguiram reunir aproximadamente 3000 casos. Em 1984, já eram registrados por AMGWERT &

GRUNDLER mais de 5000 casos na literatura.

A questão talvez mais difícil de ser respondida é se o risco elevado de câncer gástrico é influenciado pelo tipo de cirurgia realizada ou pela lesão patológica inicial.

Na reconstrução do trânsito digestivo após a gastrectomia parcial a mucosa gástrica está em contato com novo meio, pois passa a ser banhada por suco de diferente composição. A exposição da mucosa gástrica ao suco entérico, biliar e pancreático é sem dúvida maior após a reconstrução a BII quando comparado à BI. Em todas as séries, o câncer do coto gástrico é registrado com maior frequência após reconstrução a BII. Esta ocorrência poderia ser explicada pelo fato de que durante muitos anos a reconstrução a BII foi a preferida pelos cirurgiões. Entretanto, nas últimas décadas a reconstrução a BI tem sido mais frequentemente utilizada, e no entanto, as publicações mais recentes continuam mostrando maior prevalência do câncer após a reconstrução a BII.

O sexo mais prevalente é o masculino, já que neste a frequência das úlceras pépticas é maior. As publicações são unânimes em mostrar que a prevalência é 2 a 4 vezes maior no sexo masculino. Além disso, a frequência com que o câncer do coto gástrico é registrada pelos autores é maior que a ocorrência do mesmo câncer nos indivíduos da mesma faixa etária e não operados.

Quanto a realização ou não de vagotomia por ocasião da gastrectomia, TOTTEN et al. (1983) mostraram em sua revisão que o intervalo entre o tratamento cirúrgico da úlcera duodenal associada a vagotomia e o diagnóstico do subsequente carcinoma no coto remanescente é significativamente mais curto em comparação ao grupo de doentes em que a gastrectomia foi realizada sem vagotomia.

O carcinoma do coto gástrico foi definido por PRINZ em 1938 e deve basear-se em dois critérios: a) a ressecção gástrica primária deve ter sido realizada por doença benigna; b) o intervalo entre a realização da gastrectomia e a manifestação do carcinoma no coto gástrico remanescente deve ser de pelo menos 5 anos.

Durante a gastrectomia, a metade ou os dois terços distais do estômago são removidos, justamente as regiões gástricas mais frequentemente atingidas pela neoplasia gástrica primária. Portanto, poderia supor-se que a gastrectomia teria de certa forma um efeito preventivo e que a prevalência de câncer no estômago ressecado seria reduzido às baixas porcentagens de câncer do fundo gástrico e cárdia (ADAM & EFRON, 1989). No entanto, não é isto que os autores anteriormente citados referem.

Assim, fatores etiopatogênicos diretamente ou indiretamente associados com o procedimento cirúrgico realizado certamente têm implicações importantes no aparecimento do câncer do coto gástrico.

A carcinogênese no coto gástrico tem sido atribuída a vários fatores, a saber: ao refluxo bílio-pancreático e intestinal, à acloridria ou hipocloridria, à gastrite atrofica, à população bacteriana atípica, à dieta alimentar e fatores ambientais, à ação de nitritos, nitratos e compostos N-nitrosos, à junção de dois tipos diferentes de epitélio na linha de sutura e outros.

Enfim, pesquisando todas estas teorias os autores são unânimes em afirmar que o doente submetido a gastrectomia para tratar úlcera péptica, tem probabilidade de desenvolver pelos menos duas vezes mais câncer no estômago, que os não operados.

O aumento da frequência com que tem sido registrado o câncer do coto gástrico é sem dúvida condicionado ao grande número de ressecções gástricas realizadas nos últimos 20 a 30 anos para tratar a doença péptica ulcerosa. O intervalo de tempo entre a realização da gastrectomia e o aparecimento do câncer é referido pelos autores como variável entre 10 e 35 anos, com maior chance após cerca de 20 anos da cirurgia. KIVELITZ et al. (1973) e TERJESEN & ERICHSEN (1976) observaram que este intervalo é maior quanto mais jovem for o doente na ocasião da gastrectomia, sendo de cerca de 30 anos no grupo operado por volta dos 25 anos e 10 a 15 anos entre aqueles que tinham mais que 40 anos na ocasião da operação.

Revisando a frequência de câncer de coto gástrico entre 1000 pacientes 22 a 30

anos após terem sido submetidos a gastrectomia a BII para tratar úlcera duodenal, FISCHER et al. (1983) demonstraram que a incidência foi mais elevada e estatisticamente significativa, quando comparado com a frequência em que foi registrado câncer gástrico na população geral, levando em consideração inclusive idade, sexo, local de residência e tempo. DOMELLOFF et al. (1977), SCHRUMPF et al. (1977) e GRAEM et al. (1981), obtiveram conclusões semelhantes.

Para tentar elucidar algumas destas controvérsias, CAYGILL et al. (1986) revisaram os arquivos de 4466 doentes submetidos a gastrectomia entre 1940 e 1960 no *Saint James Hospital* em Londres e concluíram que não houve aumento significativo da mortalidade por câncer gástrico nos primeiros 20 anos de seguimento, mas passou a ser quatro a cinco vezes maior após este intervalo. A doença foi mais prevalente no sexo masculino, na relação 3.5:1. Esta relação foi maior nos portadores de úlcera duodenal, que nos de úlcera gástrica (4.9:1 e 2.1:1, respectivamente), e também mais elevada nos submetidos a gastrectomia a BII que na BI (5.6:1 e 1.7:1, respectivamente).

OFFERHAUS et al. (1988) estudaram a mortalidade causada por câncer gástrico em 2633 doentes gastrectomizados e verificaram que após 15 a 25 anos de pós-operatório a taxa de mortalidade observada em ambos os sexos foi respectivamente maior que a esperada na população em geral. Estes autores não observaram nenhuma correlação entre a frequência do câncer do coto gástrico e o tipo de ressecção ou localização da úlcera, por ocasião da cirurgia.

VISTE et al. (1986) analisando o risco de 3470 doentes gastrectomizados operados entre 1900 e 1969 em Oslo, na Noruega, em adquirir carcinoma foi 2 vezes maior que o da população geral da mesma região e no mesmo período, através da relação *observado/esperado*. Concluíram que, sem dúvida há aumento de frequência do câncer gástrico após a gastrectomia e, conseqüentemente, outros tipos de cirurgias que não envolvem ressecção gástrica devem ser considerados para os portadores de

doenças gastroduodenais benignas, especialmente nos pacientes jovens.

Na literatura nacional, alguns autores que relataram a questão merecem destaque (ROSENBERG et al., 1966; ABRAAO et al. 1981; MALAFAIA et al., 1982; CORDEIRO et al., 1983; AQUINO et al., 1985).

Na tabela 01 podem ser vistas algumas casuísticas de publicações de câncer do coto gástrico.

Autores	Nº	%	M/F (%/%)	UD/UG (%/%)	Tempo (anos)	BI (%)	BII (%)
HELSINGEN et al. (1956)	11	-	73/27	9/91	20	-	-
SAEGESSER & JAMES (1972)	18	2,7	94/6	83/17	19	-	100
DONY et al.(1973)	500	-	84/16	54/46	18	5	95
MORGESTERN et al. (1973)	22	-	73/27	68/9	22	9	59
LABATE et al(1975)	7	-	100/-	100/-	32	14,2	83,8
TERJENSEN et al. (1976)	36	2,1	75/25	36/64	28	-	100
PERACCHIA et al.. (1976)	14	2,5	93/7	57/43	23	-	100
LOBELLO et al(1978)	7	-	86/14	100/-	18	-	100
DEUS-FOMBELLIDA et al. (1980)	8	3	100/-	-	18	25	75
RAUWERDA et al. (1980)	134	-	88/12	84/16	24	18	82
ABRAÃO et al.(1981)	18	-	83/17	33/67	20	89	11
SCHRODER & HUNICKE (1981)	11	-	100/-	-	21	9	91
MALAFAIA et al. (1982)	12	-	91/9	8,4/-	14	-	100
FISCHER et al. (1983)	13	-	-	-	15	-	100
CASTELLANOS et al. (1983)	27	15	85/14	14,8/-	30	11.1	85,2
PEREZ et al.(1984)	16	5	81/19	50/50	17	12,5	87,5
CAYGILL et al. (1986)	44	-	-	20/80	20	4,5	95.5
VISTE et al.(1986)	87	-	88/15	51/49	28	-	100
OVASKA et al(1986a)	37	1,1	97/3	55/45	23,2	-	100
SONS et al. (1987)	55	7,2	-	-	28	-	-
De ANNA et al. (1987)	36	2,6	-	64/36	22	-	100
MIRAS ESTACIO et al. (1987)	14	3,3	85/15	57/43	21	15	57
OFFERHAUS et al. (1988)	40	1,5	80/20	40/60	20	12,5	87,5
POINTNER et al. (1989)	359	-	87/13	-	27	7	93
DOCOBO-DURANTEZ et al. (1989)	32	5,1	91/9	60/40	15	15,7	84,3

Tabela 01: Mostra algumas casuísticas sobre câncer do coto gástrico com as respectivas porcentagens em comparação ao número total de câncer gástrico (%), relação masculino/feminino (M/F), doença prévia (úlcera duodenal ou úlcera gástrica - UD/UG), intervalo entre a cirurgia prévia e o aparecimento do carcinoma (Tempo) e a cirurgia prévia (BILLROTH I/BI ou II/BII)

Diante destas informações é que nas últimas décadas têm sido realizados muitos trabalhos experimentais em animais, pesquisas em doentes gastrectomizados e revisões, no sentido de elucidar a questão e buscar conclusões definidas.

I.1. EPIDEMIOLOGIA DO CANCER GÁSTRICO, RELAÇÃO COM NITRITOS, NITRATOS e COMPOSTOS N-NITROSOS e ALIMENTOS ENVOLVIDOS

Nos últimos anos inúmeras pesquisas clínicas e estudos epidemiológicos têm demonstrado um declínio da incidência do câncer gástrico nos países mais desenvolvidos e com nível de vida economicamente mais elevados. Enquanto que, em alguns países e determinadas regiões, o número de portadores de câncer gástrico tem se mantido constante, ou até mesmo aumentado.

Estes fatos levam a crer que existam fatores etiológicos ambientais responsáveis pela etiopatogenia do câncer gástrico (HOWSON et al., 1986; TUYNS et al., 1992). As taxas mais elevadas da doença tem sido registradas no Japão, Chile, Colômbia, Costa Rica, algumas regiões da Inglaterra e da China. Por outro lado, as menores taxas são encontradas entre a população branca dos Estados Unidos (HAENSZEL et al., 1972; CORREA et al., 1975; MIRVISH, 1983; HOWSON et al., 1986).

ARMIJO & COULSON (1975) demonstraram que no Chile, onde estão presentes grandes jazidas de *salitre* (nitrato de potássio), existe correlação direta entre incidência elevada de câncer gástrico nas regiões em que se verifica ingestão tanto de alimentos como de água potável ricos em nitritos e nitratos. Além disso, concluíram que os *fertilizantes*, ricos em nitritos e nitratos são os responsáveis por esta contaminação dos alimentos e da água potável. ZALDIVAR & ROBINSON já haviam chegado a conclusões semelhantes em 1973, quando estudaram as incidências de câncer

gástrico na população rural e trabalhadores de minas no Chile.

CUELLO et al. (1976) além de estudarem a incidência do câncer gástrico na Colômbia, realizaram endoscopia digestiva com biópsias dos indivíduos que viviam nas regiões onde a ocorrência da doença era sabidamente elevada. Demonstraram que existe uma correlação significativa entre o risco de câncer gástrico, a presença de gastrite crônica atrófica e metaplasia intestinal e ingestão de água e alimentos contendo elevada taxa de nitratos. Portanto, concluem que há fortes evidências da participação dos nitratos na sua etiopatogenia.

DUTT et al. (1987) compararam a ingestão de alimentos ricos em nitratos com a ocorrência de câncer gástrico em Singapura e concluíram que existe significativa correlação entre estes fatos.

A incidência elevada de câncer gástrico no Japão é explicada por MIRVISH (1983) como sendo devido ao alto teor de nitratos presentes nos vegetais e alimentos em conservas ingeridos pela população. A própria concentração de nitrato na saliva da população no Japão é cerca de três vezes maior quando comparada com a da população branca dos Estados Unidos, onde a incidência da doença é muito baixa devido ao hábito de consumir frutas e vegetais frescos, além do que não ingere produtos contendo nitratos e nitritos e suas concentrações são rigorosamente controladas e fiscalizadas tanto na água potável como nos demais alimentos em conserva (GRAHM et al., 1972; KONO et al., 1983; HOWSON et al., 1986).

Estudo comparativo, feito por MIRVISH (1983), entre a ingestão de nitratos/dia/pessoa e a incidência de câncer gástrico em doze países (Estados Unidos, Suíça, Suécia, Dinamarca, Noruega, Inglaterra, Alemanha Ocidental, Checoslováquia, Iugoslávia, România, Bélgica e Japão) mostrou correlação positiva, direta e significativa entre eles. FRASER et al. (1980), FORMAN et al. (1985), JACOBSEN & JENSEN (1985), TANNENBAUM & CORREA (1985), BYERS (1988), são outros autores que chegaram às mesmas conclusões em suas pesquisas.

Estudos epidemiológicos têm tentado demonstrar a relação *direta* entre a quantidade de nitrito e nitrato na água potável e a incidência de câncer. Os nitratos contaminam a água potável tanto através da água de superfície, com da água dos lençóis do subsolo que dão origem aos reservatórios. Vale lembrar que os fertilizantes utilizados atualmente na recuperação de solos são ricos em nitratos e levados aos rios tanto pela água de chuva como pela irrigação e que por sua vez os rios são os mananciais que suprem de água a população (MILLER, 1980).

HILL et al. (1973) demonstraram que na cidade de Worksop na Inglaterra, a população consumia água contendo elevada concentração de nitratos. Por outro lado, estudos locais sobre a prevalência de câncer gástrico na população da cidade, mostrou que na mesma ocorria elevada taxa de mortalidade, comparada às cidades vizinhas. Entretanto, BERESFORD (1985) pesquisou a incidência de câncer gástrico entre a população de 253 áreas urbanas na Inglaterra, correlacionando-a com a quantidade de nitrato presente na água ingerida e não encontrou evidências significativas positivas que pudessem explicar a ocorrência da doença.

A ocorrência dos chamados compostos N-nitrosos, ou simplesmente chamados de compostos nitrosos, em alimentos tem recebido considerável atenção dos pesquisadores nos últimos 10 a 15 anos. A primeira suspeita de que alimentos podiam estar contaminados com compostos N-nitrosos e terem efeitos tóxicos resultou de acidente registrado na Noruega, em 1950, quando animais domésticos ingeriram grande quantidade de peixes conservados com nitritos e morreram "intoxicados". Estudos dos fígados destes animais demonstraram que continham quantidades exorbitantes de N-nitrosodimetilaminas, formadas secundariamente da reação dos nitritos com dimetilaminas endógenas presentes na carne daqueles peixes, resultando portanto em derivado N-nitroso (HOTCHKISS, 1987).

Alguns autores realizaram exaustivos estudos com a finalidade de demonstrar a

presença de nitrosaminas nos alimentos mais comumente consumidos pela população. SPIEGELHALDER et al. (1980) analisaram sistematicamente na Alemanha próximo de 3000 amostras de alimentos, incluindo vários tipos de carnes, carnes enlatadas, queijos e produtos relacionados, cervejas, leite e seus derivados, batatas, vegetais, frutas. Concluíram que diversos destes alimentos tinham quantidades bem elevadas de nitrosaminas, sendo que as mais comuns foram N-Nitrosodimetilamina e N-Nitrosopirrolidina. GOUGH et al. (1977) na Inglaterra já haviam analisado cerca de 500 amostras de alimentos, incluindo vários tipos de carnes, peixes, enlatados, leite e derivados, etc., concluindo que as duas nitrosaminas anteriormente citadas foram encontradas com regularidade em níveis elevados somente no *bacon*.

TIEDINK et al. (1986) estudaram a capacidade potencial de cerca de 30 vegetais comumente mais consumidos (feijão, tomate, cenoura, alface, espinafre, pepino, ervilhas, cebola, etc.) de formar compostos N-nitrosos biologicamente ativos quando tratados com nitritos em meio ácido. Análises laboratoriais comprovaram que todos os extratos tratados continham compostos N-nitrosos em quantidades não desprezíveis. A atividade mutagênica destes extratos foi determinada através de ensaios com a *Salmonella thyphimurium*. Os resultados evidenciaram que 50% dos vegetais tratados com nitritos tiveram capacidade mutagênica. Concluem que certamente estes vegetais tem precursores de compostos N-nitrosos, e comprovando uma vez mais que estes compostos orgânicos têm profundas implicações com a carcinogênese.

Nos Estados Unidos existe legislação rígida do Departamento de Agricultura que controla as quantidades de compostos N-nitrosos, nitritos e nitratos nos alimentos consumidos, principalmente no *bacon*, não permitindo que excedam acima de limite estabelecido. Neste país, o interesse com a ingestão excessiva destas drogas pela população é antiga. Publicações da década de 70 já mostravam a preocupação das autoridades governamentais com a questão, ao controlarem as quantidades de nitritos e nitratos nos rios do Estado de Illinois, principalmente o Rio Mississippi, do qual é até

hoje feita a captação de água para consumo de grande parte da população do sul deste país (MILLER, 1980). A Inglaterra é outro local em que é sabido ser este controle também muito rígido (FORMAN et al, 1985).

O CÓDIGO SANITÁRIO DO ESTADO DE SÃO PAULO, versão de 1978, estipula que "as águas para consumo alimentar que não tiverem sido tratadas e apresentarem teor de nitrogênio amoniacal superior a 0,08 mg/litro em N₂, ou nitrogênio albuminóide superior a 0,15 mg/litro em N₂, ou nitrogênio nitroso superior a 0,05 mg/litro em N₂, serão consideradas impróprias para o consumo, a menos que sofram o processo de purificação que as torne potáveis".

Na literatura consultada, não foi encontrado trabalho científico epidemiológico e específico correlacionando a incidência de câncer de coto gástrico com a concentração de nitritos e nitratos na água potável ou nos alimentos ingeridos pelos doentes.

I.2. A CARCINOGENICIDADE DE NITRITOS, NITRATOS E COMPOSTOS N-NITROSOS

Os sais de nitrito e nitrato, tanto de potássio como de sódio, são produtos utilizados há séculos como conservantes de todos os tipos de carnes.

Na realidade, os nitritos são o princípio ativo, entretanto, os nitratos são utilizados também amplamente porque, quando *reduzidos* quimicamente ou bioquimicamente por enzimas microbianas, transformam-se em nitritos. Portanto, os nitratos servem como um reservatório fornecedor de nitritos em produtos estocados ou *fermentados* durante longo tempo.

Assim, são três as principais funções dos nitritos: a) quando adicionadas às carnes chamadas *vermelhas*, promovem nas mesmas cor vermelho rutilante, dando portanto a impressão de estarem *muito frescas* ;
b) atuam como antioxidante, impedindo de ficarem rançosas quando estocadas durante

longo tempo, como no caso de carnes enlatadas:

c) inibem efetivamente a toxicidade do *Clostridium botulinum*.

Os nitritos e nitratos são substâncias inorgânicas encontradas no solo, em uma variedade grande de alimentos consumidos pelo homem e na água potável. Além disso, algumas regiões do globo terrestre são sabidamente fontes muito ricas destes sais, é o caso do Chile, Colômbia e regiões da China e Irã (HOWSON et al., 1986; HOTCHKISS, 1987).

A redução bioquímica de nitratos leva rapidamente à formação dos nitritos. Esta redução é facilmente realizada por enzimas bacterianas e pode também ser feita no interior do estômago, desde que haja meio propício, ou seja, hipocloridria. As bactérias mais frequentemente envolvidas neste processo são *Escherichia coli*, *Klebsiela*, *Clostridium spp.*, *Bacterioides fragilis*, *Lactobacillus spp.*, micrococos e *Staphylococcus aureus*, além de outras (CLARK et al., 1973; HILL et al., 1973; MUSCROFT et al., 1981; WATT et al., 1984a; REED, 1986).

Vale lembrar que no estômago de indivíduos normais a quantidade de bactérias presentes é bem pequena, pois não sobrevivem no suco gástrico com pH baixo (CLARK et al., 1985).

A saliva contém as maiores concentrações de nitrito e nitrato no homem, assim como na maioria dos mamíferos, a exceção do rato. A redução de nitrato a nitrito ocorre no interior das glândulas salivares. A concentração de nitrito na saliva dos humanos pode chegar a 6 a 10 mg de nitrito/litro e de nitrato a 15 a 35 mg/litro, valores estes que estão na dependência da quantidade diária ingerida. Além disso, no suco gástrico também pode ser encontrado nitrito em níveis de cerca de 0,12 ug/litro, sendo que esta concentração eleva-se a medida que o pH gástrico torna-se mais alcalino, ou seja hipoclorídrico ou aclorídrico (MIRVISH, 1983).

Estudo realizado por MUSCROFT et al. (1981) em 163 doentes submetidos a gastrectomia a BI e a BII, em que foi identificada a microflora do estômago

remanescente, bem como o seu pH, mostrou que a quantidade de bactérias presentes e viáveis está diretamente relacionado ao pH e independe da etiologia da hipocloridria. Quando o pH registrado esteve entre 1 e 2, 90% do suco gástrico aspirado foi estéril, e por outro lado, quando o pH esteve entre 4 e 8, 94% continha bactérias. Nos estômagos operados em que foi encontrado pH de 8, foi registrado 100% de bactérias, em comparação aos demais.

Poucos autores têm se preocupado em verificar experimentalmente a carcinogenicidade de nitritos e nitratos.

MATSUKURA et al. (1978) sugeriram que possivelmente a administração de nitrito de sódio a ratos poderia resultar no aparecimento de tumores no trato digestivo. Suas conclusões foram baseadas em estudos experimentais, em que foi administrado nitrito na concentração de 0,16% na dieta destes animais, tendo encontrado após algum tempo de observação, a presença de tumores hepáticos. DUCKREY et al. (1963), com experimentos semelhantes, não demonstraram evidências de carcinogenicidade dos nitritos.

INAI et al. (1979) na tentativa de demonstrar possível carcinogenicidade de nitritos, administraram a droga na água ingerida por 300 ratos, durante cerca de 109 semanas, nas dosagens de 0,5% , 0,25% e 0,125%. Durante o período de estudo registraram tanto a quantidade diária ingerida de nitritos, quanto a quantidade total ingerida pelos animais ao final do tempo de observação. A necropsia mostrou que houve o desenvolvimento de tumores benignos e malignos em vários locais como pulmões, fígado, útero, glândula mamária, além de tumores tímicos, linfomas e leucemias linfóides. Entretanto, considerando o grupo todo de animais, não houve diferença estatística significativa entre o número de tumores que apareceram no grupo tratado e o não tratado com a droga. Na sua pesquisa não faz referência a aparecimento de tumores no estômago.

MAEKAWA et al. (1982) administraram nitritos e nitratos, tanto na água

ingerida, como na dieta a 240 ratos, nas concentrações de 2,5% e 5%, e após cerca de 56 semanas de observação, realizaram necrópsia nos animais, constatando que houve o aparecimento de carcinomas em vários órgãos. Relata a ocorrência de câncer no estômago em 2% dos animais. Além disso, realizaram dosagens de compostos N-nitrosos no estômago dos mesmos e constataram a presença desta substância apenas nos grupos que receberam nitritos e nitratos, não sendo registrado compostos N-nitrosos no grupo controle. Entretanto, na análise final da pesquisa, relatam que não houve significativa diferença entre o número de tumores entre o grupo de animais tratados e controles.

WEISBURGER et al. (1980) administraram a ratos WISTAR uma mistura de nitritos com extratos proteicos homogenizados de um peixe denominado *Sanma*, muito consumido no Japão em regiões de elevado risco de câncer gástrico. Verificam que a referida mistura não apenas foi mutagênica à *Salmonella typhimurium*, como após cerca de 6 meses de observação, foi capaz de induzir o aparecimento de adenomas e adenocarcinomas no estômago em 8 dos 12 ratos tratados. Além disso, várias lesões precancerosas na mucosa foram encontradas, como *metaplasia intestinal e hiperplasia glandular cística*. Nenhum tipo de tumor gástrico foi diagnosticado em animais controles observados no mesmo período, sendo que em apenas um deles foi encontrado hiperplasia glandular cística. Estes autores relatam que é muito raro o aparecimento de tumores espontâneos em ratos WISTAR e concluem que os tumores glandulares gástricos foram decorrentes do tratamento feito aos animais.

MIRVISH et al. (1980) administraram nitritos a ratos WISTAR durante cerca de 95 semanas e verificaram a ocorrência de câncer gástrico em 18% dos animais, sendo que nos controles, apenas 2% tiveram estes tumores. A dosagem de nitrito utilizada foi de 3 g/litro de água ingerida, sendo a dose total 63 g/kg. Além disso, também administraram separadamente a outro grupo, a N-Nitroso-L-prolina, que é um ácido nitrosamínico o qual reage com nitritos e forma composto N-nitroso, e não registraram o aparecimento de nenhum câncer gástrico a 37 animais tratados com o

produto. Concluem que os nitritos foram carcinogênicos ao estômago destes animais.

ANDREWS et al. (1983) demonstram que a mistura de N-dimetildocedilamina-N-óxido, que é outro ácido nitrosamínico, a nitritos foi mutagênica a *Salmonella typhimurium*. Assim, baseado nesta pesquisa, LIJINSKY (1984) submeteu 48 ratos ao tratamento com a referida mistura e, após 93 semanas de observação, constatou que 10 animais desenvolveram tumores hepáticos, enquanto apenas 3 animais do grupo controle tiveram estes tumores.

Pesquisas avançadas dos mecanismos moleculares e celulares de carcinogênese têm sido concentradas nos compostos N-nitrosos, na tentativa de descobrir porque e como estas drogas produzem tumores em mais de 40 espécies animais com especificidade celular e orgânica. Os compostos N-nitrosos são hoje consideradas um grupo de substâncias orgânicas resultantes da interação entre os nitritos e aminas, formando as nitrosaminas, entre os nitritos e amidas, formando as nitrosamidas e os nitritos e as uréias, formando as nitrosuréias. Esta nitrosação pode se dar nos alimentos, *in vitro e in vivo*. Além disso, os fatos demonstram inequivocamente que os compostos N-nitrosos são formados no corpo humano, mesmo após a ingestão de níveis destes precursores considerados normais (FRASER et al., 1980; PREUSSMANN, 1988).

Desde a descoberta da ação carcinogênica de uma das mais conhecidas nitrosaminas, a nitrosodimetilamina, por MAGEE et al. em 1956, cerca de 200 nitrosaminas já foram identificadas como carcinogênicas em experimentos com animais, incluindo os mamíferos (entre eles os macacos), répteis, pássaros, anfíbios e peixes. Sem dúvida, todas as espécies testadas mostraram vários graus de susceptibilidade e é muito improvável que o homem seja uma exceção (CAZOTTES et al., 1981; SCHWEINSBERG & BURKLE, 1985; REED, 1986).

Os compostos N-nitrosos mostram notável grau de especificidade orgânica a qual varia de acordo com suas estruturas químicas e tumores têm sido induzidos na

maioria dos órgãos de roedores e outros animais pela administração de diferentes tipos destes compostos sob as mais variáveis condições experimentais.

A hipótese de que estes compostos poderiam induzir câncer gástrico no homem surgiu com os experimentos clássicos em animais feitos por SUGIMURA et al. (1970), que mostraram que a administração de um composto N-nitroso denominado N-Metil-N-Nitro-N-Nitrosoguanidina (MNNG) a ratos induzia câncer na porção glandular do estômago em 100% dos animais, mimetizando a doença humana. HOMBURGER et al. (1976), novamente confirmaram estes estudos utilizando outros compostos N-nitrosos semelhantes e a partir de então outras pesquisas têm sido desenvolvidas para demonstrar a mesma correlação (SAITO et al. 1970; FUKUSHIMA et al. 1974; TATEMATSU et al. 1989, 1990). KOBORI et al. (1984) demonstraram em experimentos animais bem controlados que animais que receberam o MNNG e bile ou taurocolato de sódio tiveram uma significativa e mais elevada incidência de lesões hiperplásicas e neoplásicas da mucosa gástrica que os animais tratados unicamente com MNNG.

Concluindo, os nitratos ingeridos através dos alimentos e da água potável, são convertidos a nitritos através das bactérias presentes. Os nitritos intragástricos, que também podem ser provenientes da própria saliva, combinam-se com aminas secundárias presentes nos alimentos dando origem aos compostos N-nitrosos. Esta nitrosação endógena tem sido demonstrada no homem e vários pesquisadores verificaram que em condições de pH elevado, é também registrado níveis altos de nitritos intragástricos (FRASER et al. 1980; STOCKBRUGGER et al. 1981; MUSCROFT et al. 1981; MILTON-THOMPSON et al. 1982; CLARK et al. 1985). E, como veremos a seguir, não apenas as concentrações de nitritos estão elevadas no estômago com hipocloridria, mas também os próprios compostos N-nitrosos.

I.3. REFLUXO BÍLIO-PANCREÁTICO e CÂNCER DO COTO GÁSTRICO

O refluxo enterogástrico que ocorre após a realização de gastrectomia a BI ou a BII, cujo conteúdo é formado principalmente por bile e suco pancreático, é considerado fator predisponente importante no desenvolvimento do câncer do coto gástrico. Estudos tem demonstrado que a intensidade deste refluxo varia conforme o tipo de reconstrução empregado, ou seja, seria mais intenso na reconstrução a BII que na BI. Por outro lado, deve também ser mencionado que na reconstrução a Y de ROUX praticamente não ocorre este tipo de refluxo e além disso, na gastrojejunoanastomose realizada sem ressecção gástrica, a intensidade do refluxo seria maior ainda que na gastrectomia a BII (TERJESEN & ERICHSEN, 1976; MOSIMAN et al., 1981).

O refluxo enterogástrico crônico, durante muitos anos banhando a mucosa do coto gástrico remanescente provoca alterações celulares importantes na região da anastomose. Aliado a este fato, deve ser considerado que após a gastrectomia é registrado hipo ou acloridria, bem como alterações do esvaziamento gástrico (LAWSON, 1981).

As mudanças que a mucosa gástrica sofre quando está sujeita a constante ação de bile e suco pancreático têm sido exaustivamente estudadas experimentalmente e clinicamente. As mudanças que têm sido observadas são: gastrite atrófica, gastrite crônica, metaplasia intestinal, hiperplasia glandular cística, hiperplasia papilar, pólipos adenomatosos e displasias. Estas alterações podem ser encontradas isoladas ou combinadas. O aparecimento do carcinoma seria a complicação mais grave encontrada.

A barreira de muco que protege a mucosa gástrica da autodigestão impede os compostos N-nitrosos de penetrar nas células. A falta desta barreira pode facilitar o contato destes compostos às células gástricas e levar a *turnover* celular elevado. Além disso, reduzidas quantidades de DNA celular podem também promover a carcinogenicidade dos compostos N-nitrosos em estômago com hipocloridria (HALL et

al., 1986).

As lesões da mucosa gástrica na junção dos dois tipos de epitélio próximo da anastomose são desencadeadas pela fosfolipase A e lisolecitina presentes na bile e suco pancreático, que destroem esta barreira de muco, deixando-a desprotegida e suscetível à ação de carcinógenos. (RITCHIE, 1981; PEREZ et al., 1984; POINTNER et al., 1989). Na sequência, ao longo do tempo, ocorreriam gradativamente e progressivamente as alterações celulares acima descritas.

A gastrite crônica e a atrofica seriam as primeiras alterações de mucosa secundárias ao refluxo a ocorrerem, sendo que, SAEGESSER & JAMES (1972) e STALSBERG (1971) já enfatizavam que estas gastrites secundárias à realização de gastrojejunostomia podem atuar como influência carcinogênica a longo prazo. GJERULDSSEN et al. (1968) referem que um ano após a ressecção gástrica já encontraram 78% de seus doentes com gastrite atrofica. SIURALA et al. (1974) que seguiram mais de uma centena de doentes com gastrite atrofica, fazendo reexames periódicos durante 19 a 23 anos verificaram que houve transformação neoplásica e ocorrência de atipias celulares, além de concomitante desenvolvimento de metaplasia intestinal.

A metaplasia intestinal tem sido sugerida por alguns pesquisadores como sendo um estado pré-canceroso. KORN (1974) revendo a literatura sobre a associação entre metaplasia intestinal e carcinoma verificou que vários autores apresentaram evidências de carcinomas surgindo de epitélio gástrico intestinalizado. E conclui que existe estreita associação entre metaplasia intestinal e carcinoma.

A dilatação cística das glândulas gástricas ou também chamada hiperplasia glandular cística tem sido observada com muita frequência nos achados histopatológicos de biópsias da mucosa do paciente gastrectomizado. Está associada usualmente à gastrite atrofica. Tem sido registrada como a mudança inicial da mucosa gástrica na carcinogênese experimental do rato. Além disso, é encontrada com frequência nas

proximidades do câncer gástrico precoce no homem (NAGAYO, 1974; DOMELLOFF et al., 1977).

Pólipos gástricos não são encontrados com frequência durante exames endoscópicos de doentes gastrectomizados. GRAFE et al. (1960) analisando grandes séries de necropsias referem incidência de 0,1%. DOMELLOFF et al. (1977) em sua série de 214 doentes gastrectomizados a BII, reavaliados 20 anos após a cirurgia, referem incidência de cerca de 10% de pólipos vistos à gastroscopia. A maioria destes pólipos encontrados foram sésseis, do tipo regenerativo ou inflamatório, secundários à gastrite crônica. Além disso, após repetidas endoscopias nos mesmos doentes, constataram que estes pólipos não eram constantes, variando conforme a intensidade da gastrite. Referem ainda que a transformação maligna destes pólipos regenerativos não pode ainda ser provada, nem excluída.

A displasia pode ser definida como perda parcial dos aspectos estruturais e funcionais de um tecido e é considerada por vários estudiosos como lesão pré-neoplásica, podendo ser encontrada em graus leves até graves (GRUNDMAN, 1975; JONES et al., 1978; GEBOES et al., 1980; GRAEM et al., 1984; WATT et al., 1984a; OFFERHAUS et al., 1989).

MORGENSTERN et al. (1973) foram um dos primeiros a se preocuparem com achados histológicos da mucosa de doentes gastrectomizados a BI ou a BII e gastrojejunoanastomoses.

DOMELLOFF et al. (1976) revisando 131 doentes previamente submetidos a gastrectomia a BI para doença péptica, conseguiram exames endoscópicos com biópsias da região da anastomose gastroduodenal em 70 casos, encontrando alterações histológicas importantes. A ocorrência de refluxo biliar duodenogástrico durante o exame foi em 23% dos casos. Entretanto, registraram a ocorrência de somente 4 casos de carcinoma (5,7%). Recomendam que os doentes com ressecção gástrica por doença benigna, independente do tipo de anastomose, devem ser submetidos a exames

endoscópicos com biópsias repetidamente a partir de 10 anos da operação inicial. POINTNER et al. (1988), através da endoscopia digestiva e múltiplas biópsias da anastomose detectaram carcinoma precoce no coto gástrico.

DOMELLOFF et al. (1977) repetiram estudo semelhante em 205 doentes submetidos a gastrectomia a BII para tratar úlcera péptica e da mesma forma registraram importantes alterações histológicas na região da anastomose gastrojejunal. A ocorrência de refluxo biliar neste grupo foi em 76,5% dos casos. Em 11 doentes apenas (5,3%) encontraram carcinoma no coto gástrico, sem portanto diferença estatística significativa quando comparado ao grupo de doentes com reconstrução a BI de sua pesquisa anterior.

SCHRUMPF et al. (1977) e GEBOES et al. (1980) realizaram estudos semelhantes em doentes com reconstrução a BII e registraram, além das alterações histológicas importantes da mucosa, respectivamente, a ocorrência de 3,7% e 8,9% de câncer do coto gástrico. GEBOES et al. (1980) enfatizam que em 39% dos casos foi encontrado associação de gastrite crônica com metaplasia intestinal e que apesar da displasia ser considerada lesão pré-neoplásica, o grau de cancerização não é conhecido.

GRAEM et al. (1984) realizaram exames endoscópicos com biópsias de 196 doentes submetidos a gastrectomia a BII, cerca de 22 a 30 anos após a cirurgia inicial e encontraram 14,8% de displasias e 0% carcinomas. Ao repetir o mesmo estudo 5 anos mais tarde no mesmo grupo de doentes, agora 27 a 35 anos após a primeira cirurgia, encontraram respectivamente 30,3% de displasias e 5,6% carcinomas.

I.4. OCORRÊNCIA DE NITRITOS, NITRATOS e COMPOSTOS N-NITROSOS NO ESTÔMAGO OPERADO

Algumas pesquisas na literatura têm demonstrado concentrações elevadas de nitrito, nitrato e compostos N-nitrosos no estômago remanescente do doente gastrectomizado a BÍ ou a BII. Além disso associam esta concentração elevada, ao fato destes doentes apresentarem hipocloridria e grande quantidade de bactérias redutoras de nitrato a nitrito no suco gástrico.

MUELLER et al. (1986), coletaram suco gástrico de 75 voluntários sem patologias gastroduodenais para estabelecer os valores normais de nitritos e nitratos. Assim, verificaram que a quantidade de nitrito varia entre 0,10 a 2,1 µg/ml e de nitrato está por volta de 6 µg/ml.

JONES et al. (1978) realizaram dosagens de amostras do suco gástrico de 27 doentes gastrectomizados por úlcera duodenal e correlacionaram a concentração de nitritos com as alterações celulares na mucosa do estômago remanescente. Assim, puderam verificar que nos 9 doentes em que a mucosa gástrica não evidenciava nenhuma alteração considerada pré-maligna, as concentrações de nitritos correspondentes estavam dentro dos limites da normalidade. Dentre os 8 doentes que apresentavam metaplasia intestinal, apenas dois tinham concentrações de nitritos acima da normalidade. E entre os 10 doentes que apresentavam displasia, apenas 2 tinham concentrações de nitritos dentro da normalidade, sendo que os demais estavam bem acima do nível normal. Concluem pelos resultados apresentados que concentrações elevadas de nitritos e hipocloridria no estômago operado são fatores que levam ao aparecimento do carcinoma do coto gástrico.

SCHLAG et al. (1980, 1981), estudando grupo controle de 26 indivíduos normais, verificaram que a concentração de compostos N-nitrosos no suco gástrico

foi cerca de $0,55 \pm 0,21 \mu\text{g/ml}$. Estes autores também correlacionaram estes achados com as concentrações de nitritos e compostos N-nitrosos em amostras de suco gástrico tanto de gastrectomizados a BI (10 doentes), como a BII (22 doentes), como de doentes submetidos a vagotomia gástrica proximal (12 doentes). Concluíram que a concentração de nitritos e compostos N-nitrosos nos doentes submetidos a vagotomia gástrica proximal não diferiu dos controles normais. Entretanto, os níveis de nitritos foram significativamente mais elevados nos doentes submetidos a gastrectomia a BI e a BII. E as concentrações de compostos N-nitrosos também foram significativamente elevadas nos doentes submetidos a gastrectomia a BII. Neste estudo não foram registradas alterações histopatológicas importantes na mucosa gástrica nos doentes com gastrectomia a BII e níveis elevados de nitritos e compostos N-nitrosos.

MUSCROFT et al. (1981) realizaram dosagens de nitritos, do pH e contagem de bactérias em amostras de suco gástrico de 163 doentes submetidos a cirurgia prévia para tratar úlcera péptica, através de gastrectomia a BI, a BII, a Y de ROUX, vagotomia gástrica proximal, vagotomia e piloroplastia, além de doentes ingerindo cimetidina. Verificaram que nestes doentes quando o pH registrado está acima de 4 ocorre elevada concentração de nitritos no suco gástrico e 94% deles contém bactérias. Concluíram portanto que doentes com hipocloridria estão expostos a elevada concentração de nitritos e apresentam risco elevado de desenvolverem carcinoma gástrico induzidos por compostos N-nitrosos.

WATT et al. (1984a) revisaram 100 doentes submetidos a cirurgia para tratar úlcera duodenal através de várias técnicas, a saber : gastrectomia a BI ou a BII (25 doentes), vagotomia e piloroplastia (7 doentes) e vagotomia e gastroenteroanastomose (68 doentes), realizando dosagens de pH e nitritos em amostras de suco gástrico e biópsias de mucosa. Os achados histopatológicos da mucosa gástrica foram divididos em: gastrite crônica (35 doentes), gastrite atrófica e metaplasia intestinal (30 doentes), displasia (34 doentes) e carcinoma (1 doente). Os autores encontraram significativa

correlação entre as alterações da mucosa e o pH, ou seja, doentes com gastrite crônica tinham níveis de pH abaixo de 4, e aqueles com displasia, acima de 4. As concentrações mais elevadas de nitritos foram encontradas em doentes com displasia e as menores em doentes com gastrite crônica. Concluem que estes achados confirmam a patogênese do carcinoma no estômago operado.

KEIGHLEY et al. (1984) coletaram amostras de suco gástrico de três grupos de doentes submetidos a cirurgia para tratar úlcera duodenal, a saber: vagotomia gástrica proximal (7 doentes), vagotomia troncular e piloroplastia (7 doentes) e vagotomia troncular e antrectomia (8 doentes) e realizaram dosagens de pH, nitritos e compostos N-nitrosos, além de contagem de bactérias. Verificaram que tanto o número total de bactérias como a concentração de nitritos foram significativamente mais elevadas no grupo de doentes submetidos a vagotomia troncular e antrectomia, comparado aos controles. Entretanto, não encontraram significativa elevação de compostos N-nitrosos nos doentes com vagotomia troncular e antrectomia em comparação aos demais grupos. Além disso, enquanto a contagem de bactérias e nitritos elevaram-se concomitante com a elevação de pH, nenhuma correlação foi encontrada entre compostos N-nitrosos e pH. Concluíram assim, através desta pesquisa, que podem existir outros fatores implicados na carcinogênese gástrica, além dos compostos N-nitrosos, em doentes com hipocloridria.

As observações de KEIGHLEY et al. (1984) foram confirmadas por HALL et al. (1986) que também não verificaram elevada concentração de compostos N-nitrosos em doentes com hipocloridria. Estes autores, por sua vez concluíram que possa ocorrer nitrosação química no estômago operado e que outros fatores estejam envolvidos na carcinogênese gástrica. É importante ressaltar que ambos estudaram número pequeno de doentes.

Considerando ainda a questão da hipocloridria, RUDDEL et al. (1980) verificaram a contagem de bactérias em amostras de suco gástrico de 31 doentes sob

tratamento clínico durante 30 dias com cimetidina (1 g/dia) e concluíram que o número estava muito elevado em relação aos controles, bem como ocorreu mudança na flora normal para flora tipo intestinal. Estas afirmações foram confirmadas por MUSCROFT et al. (1981) que estudaram 44 doentes.

Entretanto, MILTON-THOMPSON et al. (1982), em estudo semelhante aos anteriores, concluíram que nenhuma diferença significativa foi encontrada na contagem e nas espécies de bactérias intragástricas, ou nas concentrações de nitritos e compostos N-nitrosos como resultado do tratamento com cimetidina. E portanto, refutam totalmente a hipótese de que o tratamento com cimetidina possa elevar o risco de adquirir câncer gástrico.

Algumas publicações tentaram demonstrar associação entre ingestão de bloqueadores de receptores H₂, tipo cimetidina ou ranitidina, que produzem hipocloridria, e ocorrência de cancer gástrico. MOLLER et al. (1989) estudaram o total de 16.739 doentes que receberam cimetidina por tempo variável e concluíram que há risco relativo de adquirir cancer gástrico, entretanto o curto período de tempo de observação não permite ainda conclusões definitivas. ELDER et al. (1979) haviam chegado a conclusão semelhante.

Concentrações elevadas de compostos N-nitrosos no estômago de doentes que ingerem estas drogas foram registradas por STOCKBRUGGER et al. (1981). Vale lembrar que doente gastrectomizado por vezes também as recebe para o tratamento da gastrite alcalina, porém, não foi encontrado na literatura nenhuma pesquisa específica sobre a questão.

Nos últimos 15 a 20 anos, milhões de pessoas já ingeriram estes medicamentos e, nem por isto, as pesquisas têm demonstrado nos mesmos aumento assustador da ocorrência do câncer gástrico ou do coto gástrico. Desta forma, a relevância destas afirmações ainda deve ser comprovada e continuar em debate.

I.5. PESQUISAS EXPERIMENTAIS de INDUÇÃO do CÂNCER do COTO GÁSTRICO

Evidências clínicas e experimentais existem na literatura que os compostos N-nitrosos são substâncias carcinogênicas, principalmente no trato digestivo, tanto no homem, como em animais de laboratório. Foram identificados quase duas centenas deles e os locais do trato digestivo onde cada um pode especificamente desencadear a carcinogênese, em maior ou menor frequência (LIJINSKY, 1978 e 1987).

A revisão na literatura dos estudos experimentais utilizando o MNNG para promover o desenvolvimento do câncer do coto gástrico, mostra a preocupação dos autores com o problema.

DAHM & WERNER (1973) realizaram gastrectomias a BI e a BII em ratos e empregaram o MNNG para iniciarem o processo de carcinogênese. Estes autores obtiveram 37,8% de câncer de coto gástrico tanto nos animais operados pela técnica a BI como a BII, no período de observação variável entre 17 e 31 semanas.

RUMPF et al. (1978) realizaram gastrectomia a BII e vagotomia em ratos, submetendo-os durante 35 semanas ao tratamento com MNNG. Concluíram que a incidência de adenocarcinoma gástrico foi significativamente maior no grupo submetido a reconstrução a BII do que no grupo vagotomizado e controle.

SCHAKE & NOMURA (1979) realizaram gastrectomia a BI em ratos e avaliaram a ocorrência de carcinoma com e sem tratamento do MNNG, durante 104 semanas. Nos animais operados que não receberam o MNNG, a ocorrência de carcinoma foi 11% e nos que receberam a droga foi de 25%. Estes autores concluíram que a ressecção gástrica a BI constitui-se em fator de risco no desenvolvimento do câncer de coto gástrico.

MEINSTER et al. (1981) empregaram o MNNG em ratos submetidos a

gastroenteroanastomose, gastroenteroanastomose a BRAUN, gastrectomia a BI, gastrectomia a BII e gastrectomia a Y de ROUX, sendo metade dos animais com vagotomia troncular. Em todos os grupos de animais foram encontradas alterações celulares importantes junto à linha das anastomoses gastrojejunais, sendo a mais comum, a *hiperplasia glandular cística*. Concluíram que tanto as gastroenteroanastomoses como as gastrectomias a BII tiveram significativas alterações celulares, quando comparadas às encontradas nas gastrectomias a BI e a Y de ROUX, sendo que nestes dois últimos procedimentos não foram descritos câncer. Na sua pesquisa, não especifica quais são estas alterações, apenas enfatiza que foram severas. KONDO et al. (1984) realizaram gastrectomia a BII em ratos, e seccionaram a alça jejunal a ser interposta e anastomosaram a alça aferente separada da eferente, no coto gástrico. Dividiram os animais em dois grupos: com e sem administração do MNNG. Após o seguimento de 40 semanas, observaram a presença de 23% de adenocarcinomas no grupo que não recebeu MNNG e 40% de adenocarcinomas nos animais que receberam a referida droga. Além disso, verificaram que a ocorrência das neoplasias foi no local da anastomose da alça aferente.

NISHIDOI et al. (1984) avaliaram a relação entre os procedimentos cirúrgicos de ressecção gástrica e a incidência de câncer no estômago operado em ratos tratados ou não com MNNG. Compararam três grupos de procedimentos, a saber: gastrectomia a BII, gastrectomia a Y de ROUX com enteroanastomose 10 cm distalmente ao coto gástrico e gastrectomia a Y de ROUX com enteroanastomose a 30 cm. Os animais que receberam o MNNG foram observados durante nove meses e em seguida sacrificados, observando-se respectivamente: 38,9% de câncer no primeiro grupo, 25% no segundo grupo e 7,1% no terceiro grupo. Nos animais que não receberam o MNNG não houve referência sobre as lesões observadas.

SALMON et al. (1985) administraram o MNNG a ratos durante 12 semanas e

em seguida os submetem a ressecção gástrica a BII e a Y de ROUX, observando que a incidência de adenocarcinoma foi maior no grupo em que a reconstrução foi a BII.

HOUGHTON et al. (1987) na Inglaterra realizaram gastrectomia a BII, gastrectomia a Y de ROUX e gastroenteroanastomose com refluxo duodenogástrico total em 118 ratos machos WISTAR e administraram MNNG na água ingerida por estes animais durante seis meses. No seu estudo concluem que as operações sobre o estômago causam profundo efeito na proliferação celular estimulado pela MNNG. Foi dosado a quantidade de DNA presente nestas células e os resultados mostraram que sua produção está bem aumentada nos animais operados em comparação aos controles não operados. Os autores enfatizam que o refluxo duodenogástrico promove a proliferação celular no estômago operado e que este efeito é potencializado pelo MNNG. Além disso, ao sumarizarem sua pesquisa, salientam que o refluxo duodenogástrico pode muito bem ter importantes implicações na etiopatogenia do câncer gástrico que se desenvolve após as cirurgias para tratar a doença péptica.

Poucos autores se preocuparam em comprovar experimentalmente de que animais de laboratório submetidos a cirurgias gástricas utilizadas para tratar doença péptica desenvolvem alterações celulares importantes da mucosa, inclusive o câncer, após longo tempo de acompanhamento, sem exposição dos mesmos a quaisquer tipos de drogas adicionais.

LANGHANS et al. (1981) investigaram a carcinogênese gástrica após a realização de 5 tipos de derivações: gastrectomia a BI, gastrectomia a BII, gastrectomia a Y de ROUX, gastroenteroanastomose simples e gastroenteroanastomose a BRAUN, em ratos WISTAR, e observaram os animais durante 56 semanas.

MASON et al. (1988) , na tentativa de demonstrar a ação da secreção pancreatoduodenal na gênese do câncer do coto gástrico, realizaram diversos procedimentos em 51 ratos WISTAR, a saber: gastrectomia a BII, gastrectomia a Y

de ROUX, gastrectomia a BII com apenas refluxo biliar para o estômago operado e por fim gastrectomia a BII com refluxo pancreático e não biliar.

No único trabalho do gênero existente no Brasil, KOBAYASI em 1990, estudou a influência do refluxo do conteúdo duodenal e as lesões de mucosa e carcinogênese do coto gástrico em quatro grupos de ratos WISTAR, submetidos a gastrectomia a BII e gastrectomia a Y de ROUX, além de um grupo controle submetido apenas a gastrotomia. Em um dos grupos, na 24^a semana de observação, promoveu a transformação da gastrectomia a BII em Y de ROUX, e em outro grupo esta mudança foi na 36^a semana. Os animais foram sacrificados após 54 semanas.

A preocupação de que aminas nitrosáveis quando misturadas a nitritos ou nitratos possam dar origem a compostos N-nitrosos carcinogênicos não é recente.

Estas pesquisas iniciaram-se com o clássico trabalho de ENDO & TAKAHASHI (1973a) que demonstraram que a mistura de nitritos a N-Benzoyl-L-argininamida (BAA) acidificado, dava origem a uma poderosa droga mutagênica, possivelmente a metilnitrosocianamida (MNC), capaz de causar severas alterações celulares em microorganismos celulares. A BAA é derivada da metilguanidina, um aminoácido muito comum em carnes em conservas, sardinhas, bacalhau e outros peixes, o qual por sua vez tem estrutura química muito semelhante ao N-Metil-N-Nitro-N-Nitrosoguanidina (MNNG). Além disso, A MNC teria a mesma capacidade carcinogênica da MNNG (MIRVISH, 1973).

ENDO & TAKAHASHI (1973a, 1973b, 1973c) demonstraram que a BAA quando *nitrosada* em meio ácido teria capacidade mutagênica bem maior que outros derivados da guanidina. Os mesmos autores conseguiram também demonstrar que a metilnitrosocianamida (MNC) é fortemente carcinogênica para estômago de ratos. E mais, ENDO et al. (1974) através de outros experimentos demonstraram que a MNC foi novamente capaz de induzir tumores gástricos e esofágicos em ratos.

ISHIZAWA et al. (1979) conseguiram identificar a MNC no estômago de ratos

submetidos previamente a ligadura do piloro, e que receberam mistura de nitrito e metilguanidina na sua dieta. Nesta mesma pesquisa verificaram ainda que a MNC se forma também *in vitro*, através da mistura de nitritos com metilguanidina e que a sua síntese não ocorre quando o pH está acima de 2,5.

A única pesquisa encontrada na literatura consultada que foi desenvolvida para verificar a possível ação carcinogênica de nitratos no estômago operado foi publicada por DITTRICH et al. em 1988. Estes autores realizaram o estudo em três grupos de animais: no primeiro grupo a cirurgia foi gastroenteroanastomose; no segundo grupo a vagotomia troncular com piloroplastia; e o terceiro foi grupo controle. Os animais ingeriram solução de nitrato de sódio na concentração de 200 mg/litro, e após cerca de 33 semanas de observação, registraram a ocorrência de carcinoma somente nos animais operados e nenhum no grupo controle. Verificaram ainda que, estes procedimentos modificaram substancialmente a flora bacteriana gástrica, tendo sido encontrados numerosos microorganismos redutores de nitrato. Concluem que, os nitratos são carcinogênicos e que a etiologia do câncer no estômago operado em ratos é multifatorial.

I.6. OBJETIVOS

Tendo em vista que as gastrectomias são operações muito utilizadas na atualidade para tratar úlcera péptica, é de grande importância a questão do surgimento tardio do câncer no coto gástrico remanescente.

Além disso, pelo que foi observado da literatura, as bases etiopatogênicas de toda a carcinogênese do coto gástrico não estão ainda compreendidas na sua totalidade, em virtude da complexidade que encerram e pela estreita interdependência entre os fatores anteriormente enumerados. Sabe-se hoje portanto que, considerar apenas um desses fatores isoladamente constitui uma visão muito limitada do problema, porém, parece correto inferir que, pelo menos em termos orgânicos, é na estrutura morfológica da mucosa onde se principia todo o processo da carcinogênese, estimulado naturalmente por fatores externos.

Pelas dificuldades óbvias em se realizar estudos experimentais em humanos, os experimentos em animais de laboratório constituem uma alternativa bastante razoável, para se obter algumas respostas em relação ao processo de carcinogênese.

A inexistência de outros trabalhos experimentais elaborados especificamente para a investigação da problemática anteriormente exposta relacionada à ingestão de nitritos, nitratos, compostos N-nitrosos e o tipo de operação realizada e ainda, a persistência de controvérsias tanto no âmbito da clínica quanto no campo experimental sobre a etiopatogenia do câncer do coto gástrico, motivou o desenvolvimento desta pesquisa.

Associado ao trabalho experimental, que foi o objetivo principal, a extensa revisão de estudos clínicos da literatura aqui incluídos, traz ao leitor subsídios para importantes conclusões sobre a questão.

Os objetivos da presente pesquisa de natureza experimental foram:

1. Estudar as alterações histopatológicas que possam se desenvolver na mucosa do estômago operado, após realização de gastroenteroanastomose, gastrectomia com reconstrução pela técnica de BILLROTH II e gastrectomia com reconstrução pela técnica de Y de ROUX, todos seguidos da vagotomia troncular. Animais submetidos a gastrotomia simples servirão de controles;
2. Verificar se estas alterações da mucosa tem relação e significância com o tipo de procedimento cirúrgico utilizado;
3. Verificar se a ingestão continuada de nitritos, nitratos e compostos N-nitrosos altera as características da mucosa do estômago operado e,
4. Além disso, verificar se as alterações da mucosa no estômago operado tem relação e significância com o tipo de solução ingerida e o procedimento cirúrgico realizado.

II

MATERIAL

II.1. ANIMAIS

Nesta pesquisa foram utilizados 114 ratos da raça WISTAR (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia, Mammalia), todos machos, com cerca de 3 meses de idade e peso variável de 270 a 380 grs., fornecidos pelo CEMIB, Centro de Bioterismo da UNICAMP, conforme o andamento da pesquisa. No Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE), local de realização desta pesquisa, os animais foram mantidos à temperatura ambiente, em ciclos diurnos de luz, recebendo alimentação "ad libitum" por 5 dias, até o dia do experimento.

Os animais utilizados foram criados no próprio CEMIB em condições especiais, tais que, podem ser considerados saudáveis e livres de doenças específicas (animais "S.P.F. - Specific Pathogen Free").

II.2. GRUPOS DE ANIMAIS

Deste total, 6 animais foram inicialmente separados e utilizados para verificação da quantidade diária de água ingerida por animal. Os demais foram divididos em 12 grupos distintos, contendo 9 deles em cada grupo, totalizando portanto 108 animais:

Grupo A - Composto de 27 animais submetidos a gastrotomia, sendo:

- A1 - 9 animais tratados com água;
- A2 - 9 animais tratados com solução de nitrito + nitrato;
- A3 - 9 animais tratados com solução de composto N-nitroso;

Grupo B - Composto de 27 animais submetidos a gastroenteroanastomose + vagotomia troncular, sendo:

- B1 - 9 animais tratados com água;
- B2 - 9 animais tratados com solução de nitrito + nitrato;

B3 - 9 animais tratados com solução de composto N-nitroso;

Grupo C - Composto de 27 animais submetidos a gastrectomia a BII + vagotomia troncular, sendo:

C1 - 9 animais tratados com água;

C2 - 9 animais tratados com solução de nitrito + nitrato;

C3 - 9 animais tratados com solução de composto N-nitroso;

Grupo D - Animais submetidos a gastrectomia a Y de ROUX + vagotomia troncular, sendo:

D1 - 9 animais tratados com água;

D2 - 9 animais tratados com solução de nitrito + nitrato;

D3 - 9 animais tratados com solução de composto N-nitroso;

II.3. DROGAS UTILIZADAS

Durante o período de observação da pesquisa, os animais foram tratados diariamente com as seguintes drogas abaixo relacionadas:

a) Nitrito de potássio (KN02) - (Reagentes *Ecibra*)

b) Nitrato de potássio (KN03) - (Reagentes *Ecibra*)

c) Composto N-nitroso, obtido pela associação de nitrito de potássio + nitrato de potássio + N- Benzoyl - L - argininamida (BAA) + Ácido nítrico.

A droga N- Benzoyl -L - argininamida (BAA), por sua vez foi obtida da *Sigma Chemical Company* (St.Louis - MO - USA).

II.4. SOLUÇÕES e CONCENTRAÇÕES UTILIZADAS

As drogas acima relacionadas foram administradas na forma de soluções aquosas, preparadas conforme a necessidade diária dos animais, armazenadas em recipientes de vidro próprios, obedecendo as seguintes concentrações:

a) Nitrito de potássio - 30 mg/Kg de peso/dia

b) Nitrato de potássio - 30 mg/Kg de peso/dia

c) Composto N-nitroso - soluções de nitrito e nitrato de potássio nas concentrações acima, acrescido de BAA na concentração de 64 mg/litro. Para acidificação foi empregado ácido nítrico 0,06 ml/litro de solução (ENDO & TAKAHASHI, 1973a, 1973b, 1973c).

II.5. MATERIAIS CIRÚRGICOS

Os materiais utilizados nos diversos procedimentos foram:

a) Cuba de vidro contendo chumaço embebido com éter etílico, posicionado junto a tampa para anestésiar o animal;

b) Prancha de cirurgia com fixadores elásticos;

c) Materiais cirúrgicos: porta agulhas infantil, pinça anatômica e dente-rato delicadas, tesoura de Metzembraum delicada, tesoura reta, pinças mosquito curvas e retas, bisturi nº 3 contendo lâmina nº 11 e afastador abdominal autoestático infantil;

d) Fio de polipropileno nº 6-0, com agulha arterial de 1,0 cm, utilizado para as anastomoses intestinais;

e) Fio de algodão nº 4-0, com agulha gastrintestinal de 2,0 cm, utilizado para fechamento de segmentos intestinais e no fechamento da parede abdominal do animal.

III

METODOLOGIA

III.1. QUANTIFICAÇÃO do VOLUME DIÁRIO de ÁGUA INGERIDO pelos ANIMAIS

A fim de quantificar o volume diário ingerido de água pelos animais em observação, foram selecionados no início da pesquisa, o total de 6 ratos, com peso variando de 250 grs. a 450 grs., os quais acondicionados em gaiolas, foram observados durante uma semana. Durante este período foram medidos diariamente os volumes de água ingeridos por cada um, sendo que ao final foi possível calcular a média diária de ingestão por animal.

Conforme discriminado abaixo pode-se verificar o peso do animal e a quantidade de água ingerida por dia:

Número	Peso	Volume de Água
1	450 g.	42 ml
2	282 g.	37 ml
3	292 g.	38 ml
4	280 g.	37 ml
5	250 g.	35 ml
6	280 g.	38 ml

Assim, a média de ingestão diária de cada animal foi cerca de 40 ml.

III.2. PREPARO de SOLUÇÕES

As soluções de nitrito e nitrato de potássio e BAA foram todas em meio aquoso. O cálculo da concentração destas soluções foi feito em duas ocasiões, sendo a primeira quando os animais de cada grupo foram operados e a segunda, após aproximadamente 120 dias de observação, levando-se em conta o peso dos mesmos nestes tempos.

Para as pesagens das drogas utilizou-se balança analítica de precisão até 4 decimais, modelo *Sauter*.

III.2.1. Cálculo das Concentrações de Nitrito e Nitrato

As quantidades de nitrito e nitrato a serem utilizadas para o preparo das soluções foram obtidas multiplicando-se 30 mg x peso do animal em kg. O valor obtido corresponde portanto à quantidade da droga ingerida diariamente por animal, ou seja, a quantidade que deve estar presente em 40 ml da solução, que foi a média de ingestão diária calculada anteriormente por rato.

Em seguida, foi calculada a concentração de nitrito e nitrato presentes em um litro da solução:

Exemplo:

Animal que pesa 300 grs. ou 0.3 kgs.

$$30 \times 0.3 = 9 \text{ mg}$$

$$9 \text{ mg} \text{ ----- } 40 \text{ ml}$$

$$x \text{ ----- } 1000 \text{ ml}$$

$$x = 225 \text{ mg de solução}$$

Assim, como a solução contém nitrito + nitrato de potássio, a concentração final foi de 450 mg/litro de solução.

III.2.2. Cálculo da Concentração de Composto N-nitroso:

As quantidades de nitrito e nitrato por litro de solução foram calculadas da mesma forma descrita anteriormente, acrescidas de 64 mg de BAA e 0.06 ml de

ácido nítrico. A solução final foi mantida em geladeira à temperatura de 4^o C antes de ser administrada aos animais.

III.3. PROCEDIMENTOS REALIZADOS nos ANIMAIS

Os procedimentos realizados em cada grupo obedeceram rigorosamente os princípios da técnica cirúrgica específica já bem padronizada, bem como a anatomia do animal (ROWETT, 1957; WAYNFORTH, 1980).

Antes da realização da cirurgia propriamente dita nos vários grupos de animais, os seguintes procedimentos foram adotados, obedecendo a ordem discriminada abaixo:

a) Os animais trazidos do CEMIB, foram pesados e acondicionados em gaiolas próprias no Biotério do NMCE, contendo no máximo 4 animais em cada uma, devidamente identificadas. Antes de cada procedimento os animais foram mantidos em jejum de ração durante aproximadamente 8 horas;

b) Anestesia dos animais: feita mediante colocação do animal dentro de uma cuba de vidro anteriormente descrita;

c) Após a permanência do animal cerca de 3 a 5 minutos no seu interior, o mesmo foi progressivamente ficando anestesiado. Em seguida foi retirado da cuba e colocado em decúbito dorsal sobre a prancha de cirurgia, ficando preso e imóvel à mesma através de seus quatro membros.

d) Durante todo o ato cirúrgico, o animal foi mantido anestesiado mediante manutenção intermitente de chumaço pequeno de algodão embebido com éter etílico no interior de um cone de papelão, junto às suas narinas;

e) Feita a rapagem dos pêlos de toda a extensão do abdome;

f) Assepsia do abdome com álcool iodado;

g) Colocação de campo esterilizado fenestrado;

h) Abertura da cavidade abdominal do animal por planos, através de incisão mediana desde o apêndice xifóide, até metade da distância entre o mesmo e o seu quadril;

i) Colocação de afastador autoestático infantil para ampla exposição da sua cavidade.

III.3.1. Gastrotomia

- Identificação do estômago e colocação de dois fios de reparo na posição correspondente a parede anterior do antro do animal;

- Abertura de toda a parede gástrica, cerca de 1,0 cm de extensão, com auxílio de bisturi e tesoura, entre os fios de reparo colocados;

- Fechamento da gastrotomia com sutura de pontos separados totais, usando fio polipropileno nº 6-0 (Figs. 1A e 1B);

III.3.2. Gastroenteroanastomose com Vagotomia

Troncular

- Identificação do estômago do animal e colocação de dois fios de reparo na grande curvatura, na região correspondente ao antro do animal;

- Abertura da parede gástrica, cerca de 1,0 cm de extensão, com auxílio de bisturi e tesoura, entre os fios de reparo colocados;

- Identificação da primeira alça intestinal, distante cerca de 5,0 cm do piloro;
- Abertura da alça intestinal em cerca de 1,0 cm de extensão, no bordo contramesentérico, com auxílio de bisturi;
- Realizada a gastroenteroanastomose no sentido isoperistáltico da alça intestinal, utilizando fio de polipropileno nº 6-0 e sutura contínua com pontos extramucosos (Figs.2A e 2B);
- Identificação dos vagos anterior e posterior junto ao esôfago abdominal e secção com tesoura.

III.3.3. Gastrectomia a BILLROTH II com Vagotomia

Troncular

- Identificação do estômago do animal e da sua vascularização na pequena e grande curvatura. Isolamento dos vasos, pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão nº 4-0;
- Identificação dos vasos junto ao piloro e duodeno. Isolamento dos mesmos com o cuidado para não lesar o parênquima pancreático próximo, e a seguir pinçamento, secção e ligadura com fio algodão nº 4-0;
- Colocação de pinças mosquito reto sobre o piloro e o estômago, a seguir ressecado com bisturi, a área correspondente ao antro do animal, completando a assim a gastrectomia;
- Fechamento do coto duodenal com sutura de pontos totais, utilizando fio algodão nº 4-0. Exérese de excesso de parede esmagada pela pinça;

- Identificação de primeira alça intestinal a cerca de 5,0 cm do piloro;
- Abertura da alça intestinal, de cerca de 1,0 cm de extensão, no bordo contramesentérico, com auxílio de bisturi;
- Realizada a gastroenteroanastomose, no sentido isoperistáltico da alça intestinal, utilizando fio de polipropileno nº 6-0, com sutura contínua e pontos extramucosos (Figs.3A e 3B);
- Identificação dos vagos anterior e posterior junto ao esôfago e secção com tesoura.

III.3.4. Gastrectomia a Y de ROUX com Vagotomia

Troncular

- Identificação do estômago do animal e da sua vascularização na pequena e grande curvatura. Isolamento dos vasos, pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão nº 4-0;
- Identificação dos vasos junto ao duodeno. Isolamento dos mesmos, tendo o cuidado de não lesar o parênquima pancreático próximo, e a seguir pinçamento, secção e ligadura com fio de algodão nº 4-0;
- Colocação de pinças mosquito reto sobre o piloro e o estômago, a seguir, ressecando com bisturi a área correspondente ao antro do animal, completando assim a gastrectomia;
- Fechamento do coto duodenal com sutura de pontos totais, utilizando fio de algodão nº 4-0. Exérese de excesso de parede esmagada pela pinça;
- Identificação de primeira alça intestinal a cerca de 10,0 cm do piloro;

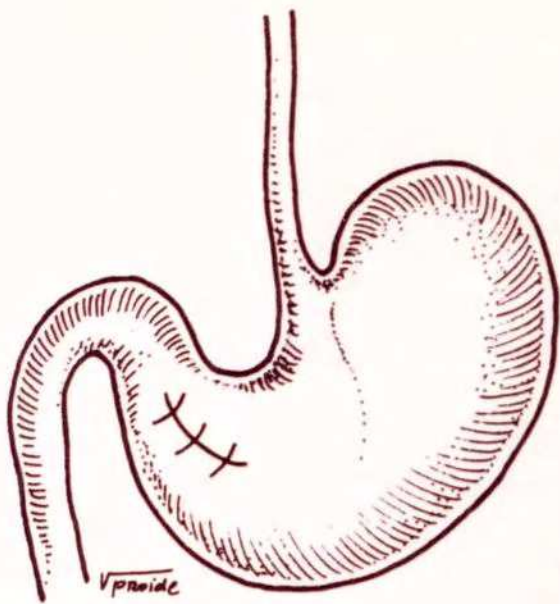
- Abertura da alça intestinal, de cerca de 1,0 cm de extensão, no bordo contramesenterial, com auxílio de bisturi;
- Realizada a gastroenteroanastomose, no sentido isoperistáltico da alça intestinal, utilizando fio de polipropileno nº 6-0, com sutura contínua e pontos extramucosos;
- Abertura de ambas as alças intestinais da gastroenteroanastomose, de cerca de 8,0 mm de extensão, no bordo contramesenterial, com auxílio de bisturi, distante cerca de 10,0 cm daquela anastomose;
- Realizada jejunojejunoanastomose látero-lateral, com sutura contínua e pontos extramucosos, utilizando fio de polipropileno nº 6-0;
- Colocação de pinças mosquito reto na alça jejunal aferente da gastroenteroanastomose, imediatamente acima da anastomose látero-lateral descrita anteriormente e secção com bisturi;
- Fechamento dos dois cotos da alça intestinal seccionada, utilizando fio de algodão nº 4-0, completando assim a reconstrução em Y de ROUX (Figs. 4A e 4B);
- Identificação dos vagos anterior e posterior junto ao esôfago e secção com tesoura;
- Fechamento de parede abdominal do animal por planos, utilizando sutura contínua de fio de algodão nº 4-0 nos planos profundos e pontos separados na pele.

Figura 1a.- Mostra em esquema o local da realização da gastrotomia no estômago do animal.

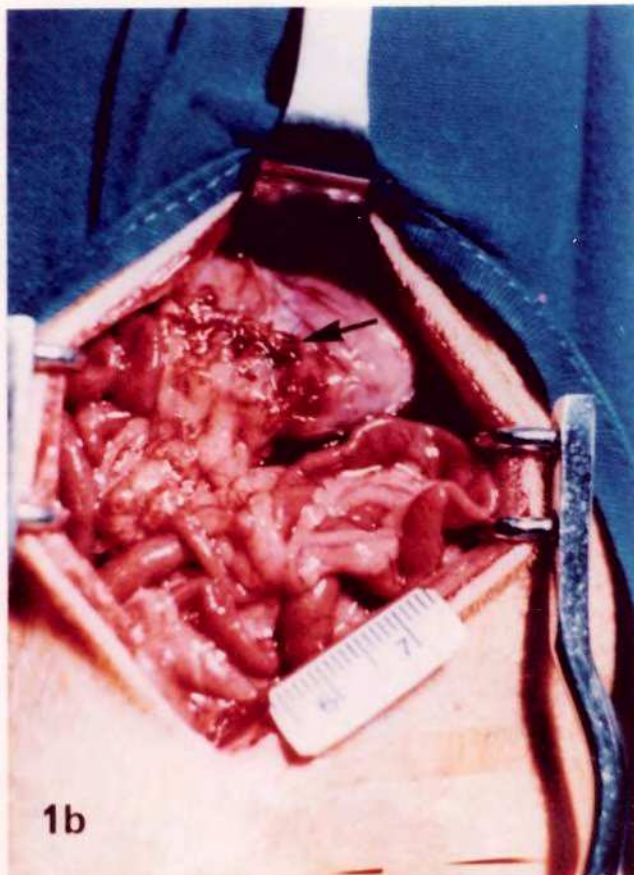
Figura 1b.- Fotografia intraoperatória mostrando a gastrotomia realizada no animal. A "seta" identifica o local da sutura.

Figura 2a.- Mostra em esquema a técnica de gastroenteroanastomose isoperistáltica e vagotomia troncular realizadas no animal.

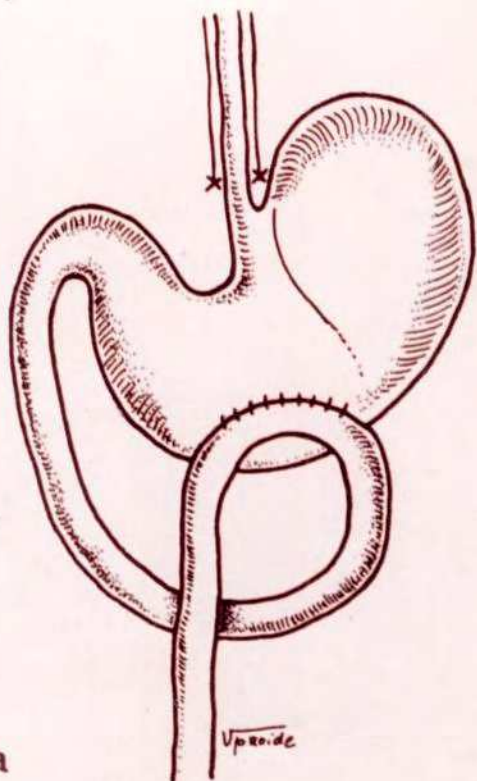
Figura 2b.- Fotografia intraoperatória mostrando a gastroenteroanastomose já realizada. Os nervos vagos estão reparados na transição esofagogástrica. A "seta" identifica o nervo vago anterior.



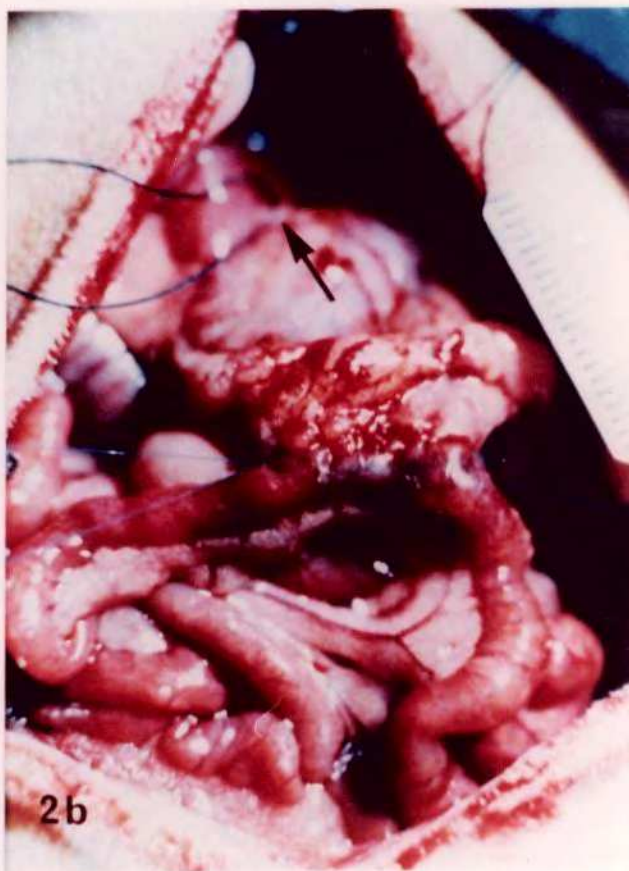
1a



1b



2a



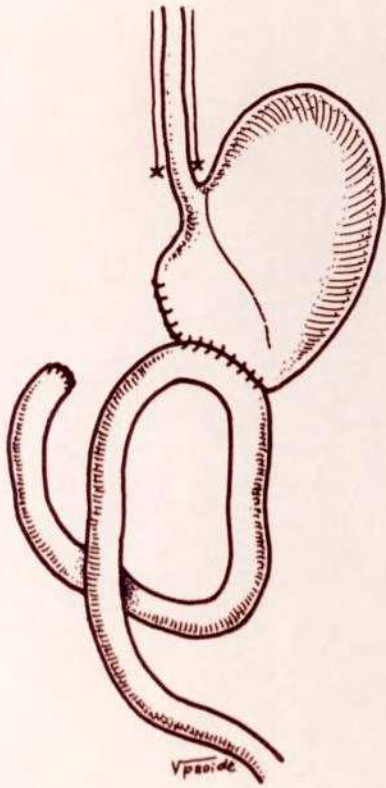
2b

Figura 3a.- Mostra em esquema a técnica de gastrectomia a BILLROTH II e vagotomia troncular realizadas no animal.

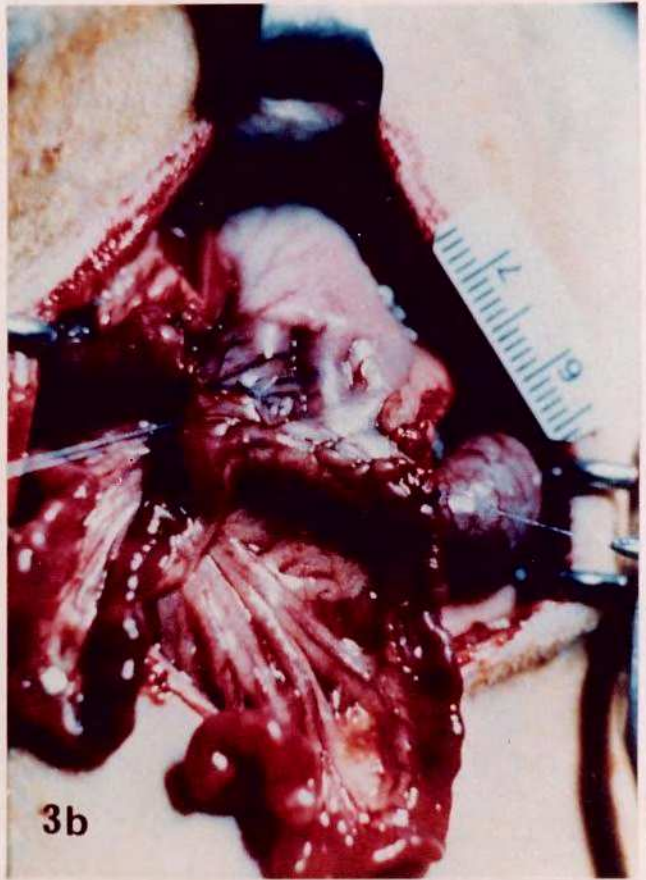
Figura 3b.- Fotografia intraoperatória mostrando a gastrectomia a BILLROTH II realizada no animal.

Figura 4a.- Mostra em esquema a técnica de gastrectomia a Y de ROUX e vagotomia troncular realizada no animal.

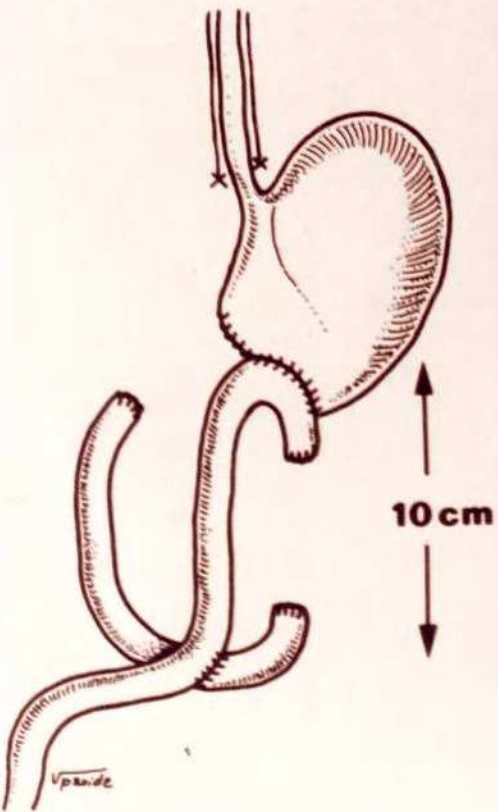
Figura 4b.- Fotografia intraoperatória mostrando a gastrectomia a Y de ROUX realizada no animal. A "seta" identifica o local da jejunojejunoanastomose latero-lateral.



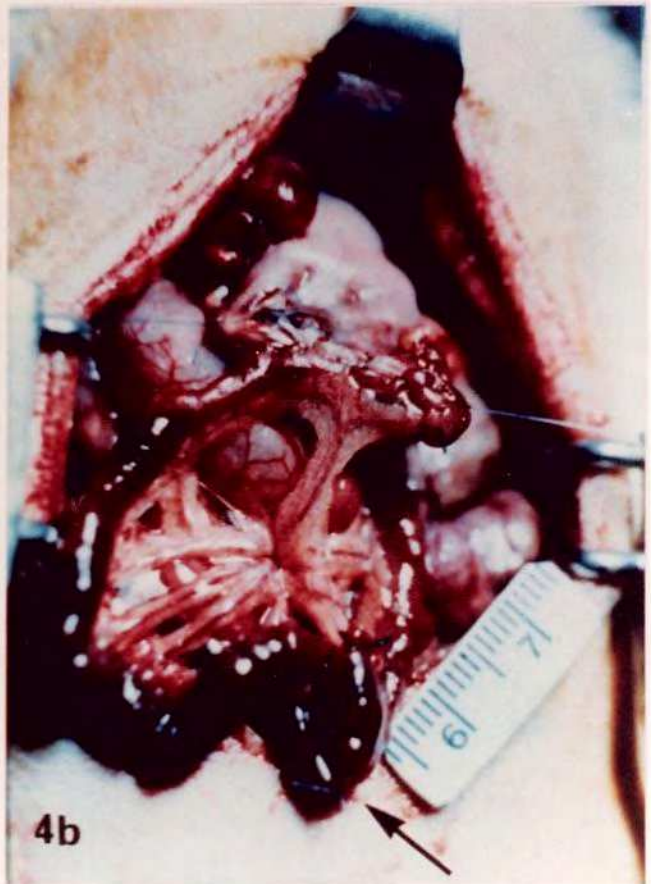
3a



3b



4a



4b

III.4. CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS

Imediatamente após terminado o ato operatório os animais foram recolocados nas gaiolas respectivas, sendo permitido ingerir apenas água durante as próximas 24 horas. Após este prazo, iniciaram ração habitual.

Cerca de 72 horas após a cirurgia, passaram a receber as soluções com as drogas, conforme protocolo de estudo estabelecido.

As soluções foram colocadas em frascos de vidro próprios, devidamente fixados a gaiola, para evitar perdas. Durante o período de estudo o animal não ingeria nenhum outro líquido via oral, a não ser a solução contendo a droga.

A ração que receberam diariamente foi da PURINA NUTRIMENTOS LTDA (ver tabela 33 no apêndice).

III.5. TEMPO de OBSERVAÇÃO e ESTUDO dos ANIMAIS

O tempo de observação e estudo dos animais até o sacrifício e obtenção das peças foi de aproximadamente 240 dias (8 meses), divididos em dois períodos de 120 dias (4 meses).

III.6. CONTROLE de INGESTÃO das SOLUÇÕES

O controle de ingestão de soluções e coleta de informações do volume ingerido em cada gaiola foi feito a cada dois dias, pelo técnico do Biotério do NMCE, devidamente treinado e orientado. Este volume foi devidamente anotado em livro de controle, para que ao final do tempo de observação fosse obtido o volume

total e calculado o volume ingerido por animal. Após cada medição, o frasco da gaiola novamente era completado com a solução correspondente, até a sua capacidade máxima. Caso os animais estivessem ingerindo apenas água, a sistemática de coleta de informações era a mesma das soluções.

O volume ingerido por animal no período de estudo foi calculado dividindo o volume total de solução consumida em cada gaiola, pelo número de animais da mesma. Para cálculo dos volumes diários, o volume total ingerido por animal foi dividido pelo número de dias de estudo.

Após cada período de aproximadamente 120 dias de observação, cada animal era repesado para novo cálculo das dosagens, concentrações e preparo das soluções. Este rigoroso controle foi com a finalidade de, ao término do estudo, fosse obtido:

a) Volume que cada animal ingeriu de água diariamente (ml/dia/rato), valor este denominado de V_a , o qual correspondeu à média dos valores de V_{a1} e V_{a2} , sendo:

V_{a1} - Volume que cada animal ingeriu diariamente no primeiro período de estudo;

V_{a2} - Volume que cada animal ingeriu diariamente no segundo período de estudo.

b) Volume total que cada animal ingeriu de água durante todo o tempo de estudo (litros/rato/meses de estudo), valor este denominado de V_t , que correspondeu a soma dos valores de V_{t1} e V_{t2} , sendo:

V_{t1} - Volume total que cada animal ingeriu durante o primeiro período de estudo;

Vt2 - Volume total que cada animal ingeriu durante o segundo período de estudo.

c) Volume que cada animal ingeriu da solução de nitrito + nitrato diàriamente (ml/dia/rato), valor este denominado de Vd(1), o qual correspondeu à média dos valores Vd1 e Vd2, sendo:

Vd1 - Volume de solução que cada animal ingeriu diàriamente no primeiro período de estudo;

Vd2 - Volume de solução que cada animal ingeriu diàriamente no segundo período de estudo.

d) Quantidade de nitrito + nitrato na solução correspondente que cada animal ingeriu diàriamente (mg/dia/rato), valor este denominado de Qd(1), o qual correspondeu a média dos valores de Qd1 e Qd2, sendo:

Qd1 - Quantidade ingerida diàriamente no primeiro período de estudo;

Qd2 - Quantidade ingerida diàriamente no segundo período de estudo.

e) Quantidade total de nitrito + nitrato que cada animal ingeriu durante todo o período de estudo (grs./rato/meses de estudo), valor este denominado de Qt(1), o qual correspondeu a soma dos valores de Qt1 e Qt2, sendo:

Qt1 - Quantidade total ingerida no primeiro período de estudo;

Qt2 - Quantidade total ingerida no segundo período de estudo.

f) Quantidade de composto N-nitroso (BAA) na solução correspondente que cada animal ingeriu diàriamente (mg/dia/rato), valor este denominado de Nd, o qual correspondeu à média dos valores de Nd1 e Nd2, sendo:

Nd1 - Quantidade ingerida diariamente no primeiro período de estudo;

Nd2 - Quantidade ingerida diariamente no segundo período de estudo;

g) Quantidade total de composto N-nitroso (BAA) que cada animal ingeriu durante todo o período de estudo (grs./rato/meses de estudo), valor este denominado de Nt, o qual correspondeu a soma dos valores de Nt1 e Nt2, sendo:

Nt1 - Quantidade total ingerida no primeiro período de estudo;

Nt2 - Quantidade total ingerida no segundo período de estudo.

h) Além disso, foram também calculados os valores correspondentes às quantidades de nitrito + nitrato presentes nas soluções de composto N-nitroso ingeridas pelos grupos, sendo:

Vd(2) - Quantidade média diária de nitrito + nitrato em solução que cada animal ingeriu durante 8 meses de estudo (ml/dia/rato), calculado a partir dos valores Vd1 e Vd2;

Qd(2) - Quantidade média diária de nitrito + nitrato em solução que cada animal ingeriu durante 8 meses de estudo (mg/dia/rato), calculado a partir dos valores Vd1 e Vd2;

Qt(2) - Quantidade total de nitrito + nitrato em solução que cada animal ingeriu durante 8 meses de estudo (grs./rato/8 meses de estudo), calculado a partir de valores Qt1 e Qt2.

III.7. COLETA das PEÇAS CIRÚRGICAS

Ao término do período de observação e estudo, cada animal foi repesado para obtenção de seu peso final. Em seguida, foi anestesiado, colocado na prancha

cirúrgica e teve seu abdome reaberto, obedecendo os mesmos cuidados e técnicas já descritos anteriormente.

Uma vez aberta a cavidade abdominal, foi feito exame detalhado de todo abdome e vísceras, a procura de quaisquer anormalidades. O estômago com as anastomoses foram identificados e tiveram possíveis aderências cuidadosamente liberadas, e em seguida foram ressecados em bloco e colocados em uma cuba contendo soro fisiológico.

Após retirada da peça cirúrgica, o animal foi sacrificado.

III.7.1. Análise macroscópica das peças

As peças cirúrgicas foram analisadas externa e internamente. A abertura das mesmas em todos os casos foi através da grande curvatura, para obter boa exposição de toda sua mucosa e da região da anastomose.

Os achados macroscópicos foram catalogados como:

- Normal (nl) - não foram visualizadas quaisquer alterações na mucosa;
- Tumores (tu) - quando foram visualizadas ou palpadas tumorações fazendo saliência na mucosa ou na parede do estômago;
- Úlceras (ul) - quando foram visualizadas ulcerações na mucosa;
- Tumores e Úlceras (tu + ul) - quando foram visualizados tumores e úlceras concomitantes.

III.7.2. Exérese de fragmentos para análise microscópica

Após cada peça ter sido devidamente fotografada, foram retirados em média 2 a 4 fragmentos da área da anastomose, interessando diretamente os tumores, nódulos ou úlceras se houverem, e os quais foram colocados em vidro contendo solução de formol a 10%, devidamente identificados.

III.7.3. Análise microscópica

Os fragmentos obtidos foram processados no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital das Clínicas - UNICAMP. Inicialmente foram desidratados em bateria de álcool e xilol. Após a diafanização, foram incluídos em parafina e, em seguida, cortados em micrótomo.

Todos os cortes foram feitos na espessura de 5 μ m cada. Após sua reidratação, foram fixados em lâminas e coradas com hematoxilina e eosina.

A análise microscópica das lâminas foi minuciosa e exaustiva, no sentido de identificar todas as alterações histopatológicas.

III.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise comparativa e testes estatísticos utilizando *Qui-Quadrado*, *Teste T de Student*, *Análise de Variância* e *Teste de Duncan* foram utilizados com significância ao nível de 5%, de modo a mostrar diferenças ($p < 0,05$) ou semelhanças ($p > 0,05$) entre os parâmetros analisados e os grupos (ZAR, 1984).

IV

RESULTADOS

IV.1. TEMPO de OBSERVAÇÃO dos ANIMAIS

A tabela 02 mostra o tempo de observação dos animais nos vários grupos em dias, correspondente ao período em que os mesmos ingeriram as soluções preparadas ou apenas água.

O tempo médio de observação em dias, com aproximação decimal, em cada grupo, foi respectivamente:

Grupo A - 236 dias (7,8 meses)
 Grupo B - 236 dias (7,8 meses)
 Grupo C - 241 dias (8 meses)
 Grupo D - 243 dias (8,1 meses)

<i>Cirurgia</i>	<i>Grupos de animais</i>	<i>Tempo(dias)</i>
<i>Gastrotomia</i>	.Água (A1).....	230
	.Nitrito+Nitrato (A2).....	235
	.N-Nitroso (A3).....	243
<i>Gastroentero-anastomose</i>	.Água (B1).....	233
	.Nitrito+Nitrato (B2).....	227
	.N- Nitroso (B3).....	247
<i>Gastrectomia BII</i>	.Água (C1).....	230
	.Nitrito+Nitrato (C2).....	228
	.N-Nitroso (C3)	266
<i>Gastrectomia Y de ROUX</i>	.Água (D1).....	224
	.Nitrito+Nitrato (D2).....	227
	.N-Nitroso (D3).....	279

Tabela 02 - Tempo de observação dos animais em dias

IV.2. CONTROLE de PESO dos ANIMAIS

A tabela 03 mostra a média em gramas do peso inicial (P.I.), do peso após aproximadamente 120 dias de observação (P.M.), e do peso final (P.F.) dos animais nos vários grupos, e a diferença no final da pesquisa (P.F.-P.I.). O peso inicial foi obtido na ocasião em que o animal foi operado e o peso final quando o mesmo foi sacrificado.

Cirurgias	Grupos	P.I.	P.M.	P.F.	(P.F.-P.I.)
Gastro- tomia	.Água (A1)	330	362	388	58
	.Nitrito+Nitrato(A2)	330	445	492	162
	.N-Nitroso (A3)	320	417	430	110
Gastro- entero- anastomose	.Água (B1)	380	440	493	113
	.Nitrito+Nitrato(B2)	330	358	376	46
	.N- Nitroso (B3)	380	405	428	48
Gastrec- tomia BII	.Água (C1)	360	410	438	78
	.Nitrito+Nitrato(C2)	300	355	391	91
	.N- Nitroso (C3)	340	419	451	111
Gastrec- tomia Y de ROUX	.Água (D1)	360	385	403	43
	.Nitrito+Nitrato(D2)	310	411	453	143
	.N- Nitroso (D3)	270	360	405	135

Tabela 03 - Peso médio dos animais em gramas durante o estudo.

Os pesos médios dos animais, comparados por tipo de solução ingerida, entre o início e o fim da pesquisa através de *Análise de Variância e Teste de Duncan*, mostraram que as amostras foram homogêneas, com discreta diferença para o grupo A

no início do experimento. A tabela 21 no apêndice mostra as semelhanças das amostras.

Analisando a tabela acima, os grupos A2, A3, B1, C3, D2 e D3 apresentaram maiores ganhos de peso durante o período de observação, ou seja, acima de 100 g.

O Teste de *Student* comparando os pesos médios dos animais por tipo de procedimento e tipo de solução, no início e no fim da pesquisa, mostra que as diferenças são altamente significativas ($p < 0,001$) (ver tabela 22 no apêndice).

Ao final da pesquisa, comparando os pesos médios dos animais por tipo de solução e tipo de procedimento, através de *Análise de Variância e Teste de Duncan*, foi verificado que (ver tabela 23 no apêndice):

a) na comparação entre A1/B1/C1/D1 - os grupos A1 e D1 foram homogêneos e significativamente diferentes ($p < 0,0001$) dos grupos C1 e B1 ($B1 > C1 > A1/D1$);

b) na comparação entre A2/B2/C2/D2 - os grupos B2 e C2 foram homogêneos e significativamente diferentes ($p < 0,0001$) dos grupos A2 e D2 ($A2 > D2 > B2/C2$);

c) na comparação entre A3/B3/C3/D3 - os grupos A3 e B3 foram homogêneos e significativamente diferentes ($p < 0,0001$) dos grupos C3 e D3 ($D3 > C3 > A3 > B3$);

Comparando os pesos médios finais dos animais, aplicando os mesmos testes, por tipo de procedimento e tipo de solução, foi verificado que (ver tabela 24 no apêndice):

a) nos animais submetidos a gastrostomia (A1/A2/A3) a diferença dos pesos foi significativa ($p < 0,0001$) entre as três soluções ingeridas. O ganho de peso foi superior nos animais que ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso;

b) nos animais submetidos a gastroenteroanastomose (B1/B2/B3) a diferença dos pesos foi significativa ($p < 0,0001$) entre as três soluções ingeridas. Os

animais que ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso tiveram ganho de peso inferior;

c) os animais submetidos a gastrectomia a BII e que ingeriram água e nitrito + nitrato (C1/C2) apresentaram homogeneidade de pesos e significativamente diferentes ($p < 0,0001$) em relação aos que ingeriram composto N-nitroso (C3);

d) Os animais submetidos a gastrectomia a Y de ROUX e que ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso (D2/D3) apresentaram homogeneidade de pesos e significativamente diferentes ($p < 0,0001$) em relação aos que ingeriram água (D1).

Os gráficos 01, 02, 03, 04, 05, 06 e 07 mostram a evolução dos pesos médios dos animais, respectivamente conforme as soluções ingeridas e os procedimentos realizados.

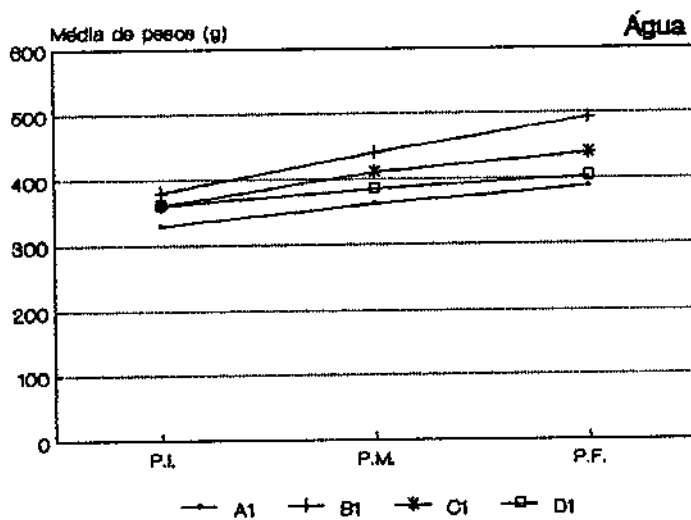


Gráfico 01

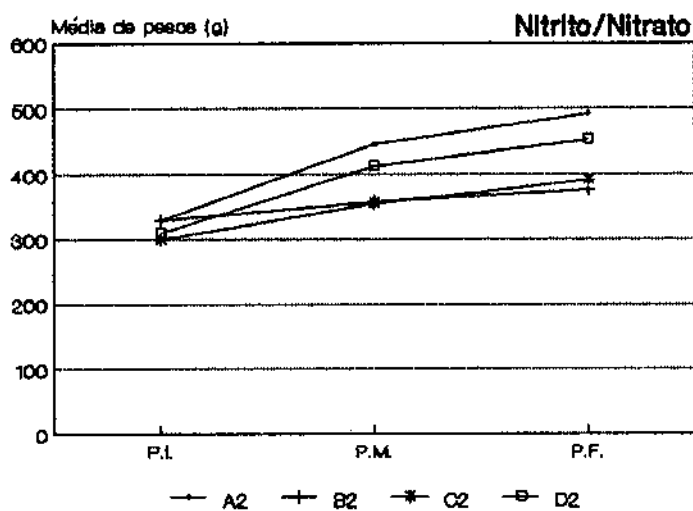


Gráfico 02

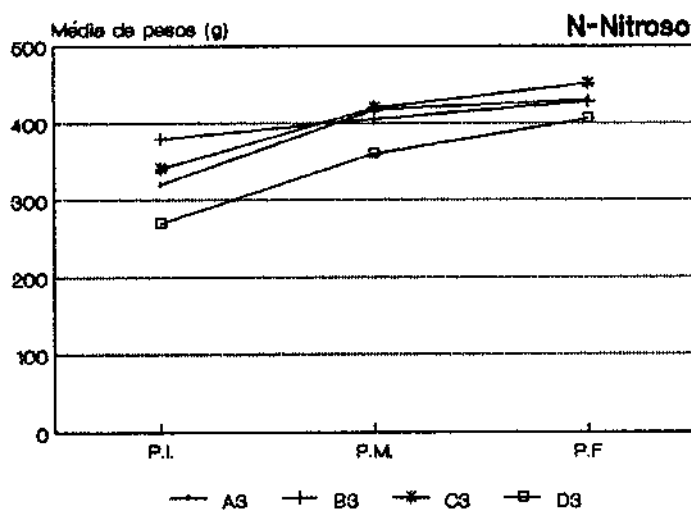


Gráfico 03

Os gráficos 01, 02 e 03 acima mostram a evolução de pesos dos animais conforme as soluções ingeridas nos grupos (P.I. - peso inicial; P.M. - peso médio; P.F. - peso final)

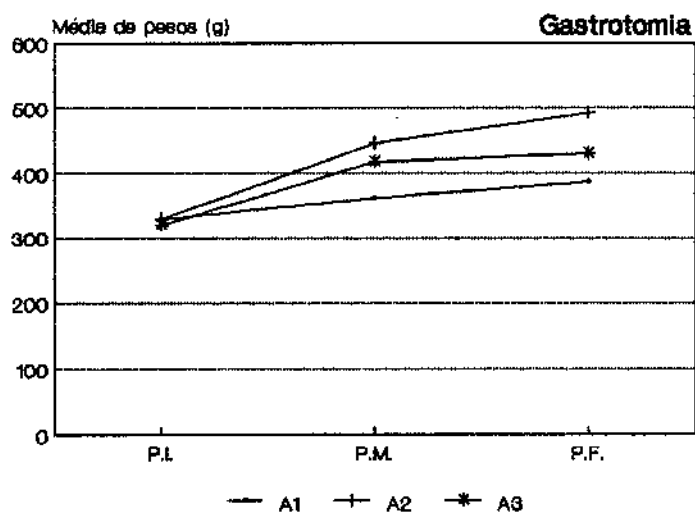


Gráfico 04

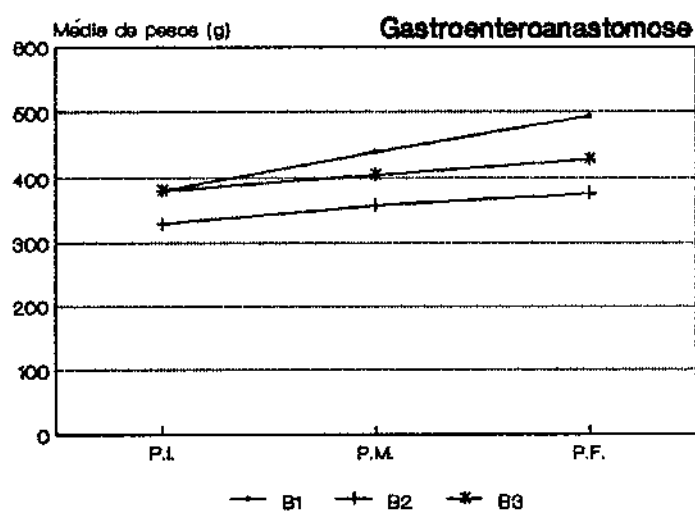


Gráfico 05

Os gráficos 04 e 05 acima mostram a evolução de pesos dos animais, conforme os procedimentos realizados nos grupos (P.I. - peso inicial; P.M. - peso médio; P.F. - peso final)

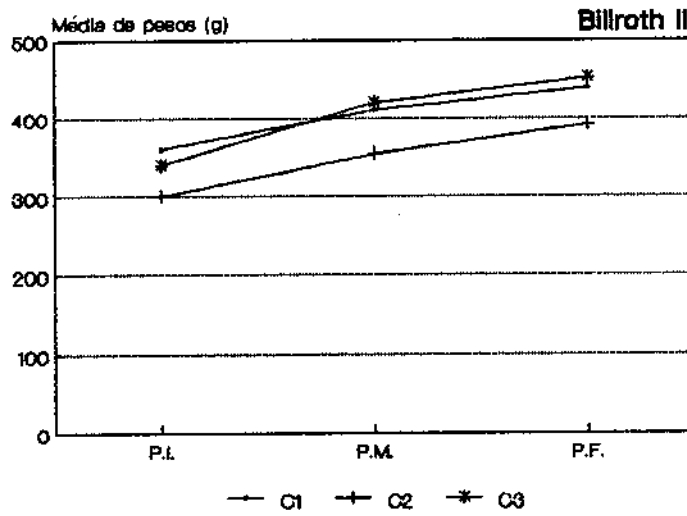


Gráfico 06

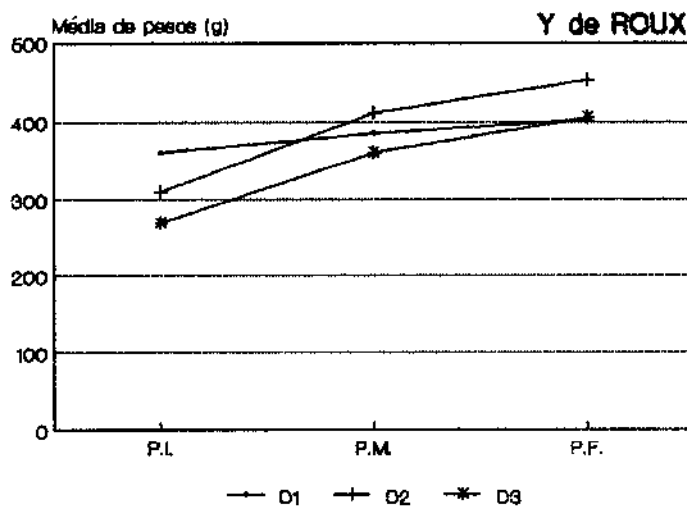


Gráfico 07

Os gráficos 06 e 07 acima mostram a evolução de pesos dos animais, conforme os procedimentos realizados nos grupos (P.I. - peso inicial; P.M. - peso médio; P.F. - peso final)

IV.3. QUANTIDADES INGERIDAS das SOLUÇÕES e de ÁGUA

As quantidades ingeridas de água, conforme os grupos de animais, estão discriminados na tabela 04 abaixo:

Volumes ingeridos	Grupos de animais			
	A1	B1	C1	D1
Va1	31,08	35,83	38,16	33
Va2	32,90	43,1	45,4	43,4
Va	31,99	39,46	41,78	38,2
Vt1	3,57	4,15	4,38	3,69
Vt2	3,78	5,04	5,22	4,86
Vt	7,35	9,19	9,6	8,55

Tabela 04 - Volumes médios de água ingeridos pelos animais nos diversos grupos.
(Va = ml/dia/rato e Vt = litros/rato/meses de estudo)

Comparando separadamente os valores da tabela acima, conforme os procedimentos realizados, utilizando *Análise de Variância e Teste de Duncan*, foi verificado que (ver tabela 25 no apêndice):

a) na comparação A1/B1/C1/D1 os volumes diários de água (Va = ml/dia/rato) ingeridos foram significativamente diferentes ($p = 0,0001 - p < 0,05$). O volume ingerido pelo grupo A1 foi significativamente inferior aos demais, e em ordem crescente de valores temos em seguida o grupo D1, B1 e C1 ($C1 > B1 > D1 > A1$);

b) na comparação A1/B1/C1/D1 os volumes totais de água (Vt = litros/rato/8

meses de estudo) ingeridos durante toda a pesquisa também foram significativamente diferentes ($p = 0,0173 - p < 0,05$). Entretanto, os volumes totais ingeridos pelos grupos A1 e D1 foram semelhantes e significativamente diferentes dos grupos B1 e C1 ($B1/C1 > A1/D1$).

As quantidades ingeridas das soluções de nitrito + nitrato, conforme os grupos de animais operados, estão discriminados na tabela 05 a seguir:

Valores	Grupos de animais			
	A2	B2	C2	D2
Vd1	37	27,5	42,5	36,8
Vd2	40	32,5	46,1	48,4
Vd(1)	38,5	30	44,3	42,6
Qd1	18,3	13,6	19,12	17,11
Qd2	26,7	17,45	24,54	29,83
Qd(1)	22,5	15,53	21,83	23,47
Qt1	2,15	1,55	2,17	1,95
Qt2	3,12	1,97	2,79	3,37
Qt(1)	5,27	3,52	4,96	5,32

Tabela 05 - Quantidades médias ingeridas de nitrito + nitrato conforme os grupos de animais. (Vd = ml/dia/rato; Qd = mg/dia/rato e Qt = gs./rato/meses de estudo)

Comparando separadamente os valores da tabela acima, conforme os procedimentos realizados, utilizando os mesmos testes estatísticos, foi verificado que (ver tabela 25 no apêndice):

a) na comparação A2/B2/C2/D2 os volumes diários de solução de nitrito + nitrato - Vd(1) = ml/dia/rato foram significativamente diferentes ($p < 0,0001$). O

volume ingerido pelo grupo B2 foi significativamente inferior aos demais, e em ordem crescente de valores, temos os grupos A2 e D2 e em seguida o grupo C2 ($C2 > A2/D2 > B2$);

b) na comparação A2/B2/C2/D2 as quantidades diárias de nitrito + nitrato - $Qd(1) = \text{mg}/\text{dia}/\text{rato}$ foram significativamente diferentes ($p = 0,0079 - p < 0,05$). A quantidade ingerida pelo grupo B2 foi significativamente inferior aos demais, e em ordem crescente de valores temos em seguida os grupos C2, A2 e D2 ($D2 > A2 > C2 > B2$);

c) e considerando as quantidades totais de nitrito + nitrato ingeridas durante toda a pesquisa - $Qt(1) = \text{grs.}/\text{rato}/8$ meses de estudo - foi verificado que também foram significativamente diferentes ($p = 0,0297 - p < 0,05$) nos grupos, seguindo a mesma ordem crescente de valores descrita anteriormente ($D2 > A2 > C2 > B2$). As quantidades ingeridas das soluções de composto N-nitroso (nitrito + nitrato + BAA acidificado), conforme os grupos de animais, estão discriminados na tabela 06 a seguir:

Valores	Grupos de animais			
	A3	B3	C3	D3
Vd1	33,9	42,6	36,2	38,3
Vd2	42	46,9	47	42,2
Vd(2)	37,95	44,75	41,6	40,25
Qd1	16,27	24,28	18,46	15,51
Qd2	26,27	28,49	29,53	22,78
Qd(2)	21,27	26,38	23,99	19,14
Qt1	1,98	2,38	2,08	2,15
Qt2	3,2	3,53	3,33	3,18
Qt(2)	5,18	6,51	5,41	5,33
Nd1	2,16	2,72	2,31	2,45
Nd2	2,68	3	3	2,7
Nd	2,42	2,86	2,65	2,57
Nt1	261,36	337,28	261,03	340,55
Nt2	326,96	369	339	378
Nt	588,32	706,28	600,03	718,55

Tabela 06- Volumes e quantidades medias ingeridas de composto N-nitroso nos varios grupos de animais (Vd = ml/dia/rato; Qd = ml/dia/rato; Qt = gs./rato/meses de estudo; Nd = mg/dia/rato; Nt = gs./rato/meses de estudo.

Comparando separadamente os valores da tabela anterior conforme os procedimentos realizados, utilizando os mesmos testes estatísticos, foi verificado que (ver tabela 25 no apêndice):

a) na comparação A3/B3/C3/D3 os volumes diários de solução de composto N-nitroso - $Vd(2) = \text{ml/dia/rato}$ - ingeridos foram significativamente diferentes ($p = 0,0257 - p < 0,05$). Os volumes ingeridos pelos grupos A3 e D3 foram significativamente inferiores aos grupos B3 e C3 ($B3/C3 > D3/A3$);

b) na comparação A3/B3/C3/D3, as quantidades diárias de nitrito + nitrato nas soluções de composto N-nitroso ingeridas - $Qd(2) = \text{mg/dia/rato}$ - foram significativamente diferentes ($p = 0,0301 - p < 0,05$). As quantidades ingeridas pelos grupos A3 e D3 foram significativamente inferiores aos grupos B3 e C3 ($B3 > C3 > D3 > A3$);

c) na comparação A3/B3/C3/D3 as quantidades totais de nitrito + nitrato - $Qt(2) = \text{grs./rato/8 meses de estudo}$ - nas soluções de composto N-nitroso ingeridas, não foram significativamente diferentes ($p = 0,7383 - p > 0,05$);

d) na comparação A3/B3/C3/D3 as quantidades diárias de BAA - $Nd = \text{mg/dia/rato}$ - nas soluções de composto N-nitroso ingeridas, não foram significativamente diferentes ($p = 0,1987 - p > 0,05$);

e) na comparação A3/B3/C3/D3, as quantidades totais de BAA - $Nt = \text{grs./rato/8 meses de estudo}$ - nas soluções de composto N-nitroso ingeridas durante a pesquisa, entretanto, foram significativamente diferentes ($p = 0,002 - p < 0,05$). As quantidades totais ingeridas pelos grupos A3 e C3 foram significativamente inferiores aos grupos B3 e D3 ($D3 > B3 > C3 > A3$).

Na comparação feita conforme os tipos de soluções ingeridas pelos vários grupos nas tabelas 05 e 06, foi verificado que:

a) comparando os valores médios V_a , $V_d(1)$ e $V_d(2)$, através de *Análise de*

Variância e Teste de Duncan, houve diferença significativa somente no grupos A e B. No grupo A, os volumes ingeridos pelo grupo A1 foram significativamente diferentes dos grupos A3 e A2 ($p = 0,0006 - p < 0,05$), sendo $A2/A3 > A1$. No grupo B, os volumes ingeridos foram significativamente diferentes entre si ($p < 0,001 - p < 0,05$), sendo $B3 > B1 > B2$ (ver tabela 26 no apêndice);

b) comparando os valores médios de Qd(1) e Qd(2), através de Teste de *Student*, houve diferença estatística significativa entre as quantidades ingeridas somente no grupo B ($p < 0,001 - p < 0,005$), sendo $B3 > B2$ (ver tabela 27 no apêndice);

c) comparando os valores médios de Qt(1) e Qt(2), através Teste de *Student*, houve diferença estatística significativa entre as quantidades ingeridas somente no grupo B $p < 0,02 - p < 0,05$), sendo $B3 > B2$ (ver tabela 08 no apêndice).

IV.4. ANÁLISE MACROSCÓPICA do ESTÔMAGO OPERADO

Uma vez sacrificados os animais e retirados os estômagos operados, estes foram cuidadosamente abertos, de modo a que se pudesse visualizar a mucosa na sua totalidade. As alterações macroscópicas visualizadas foram catalogadas como normal (nl), tumores (tu), úlceras (ul) e tumores e úlceras concomitantes (tu + ul).

A tabela 07 a seguir mostra a frequência com que foram encontradas.

	<i>nl</i>	<i>tu</i>	<i>ul</i>	<i>tu + ul</i>
A1	9(100%)	-	-	-
A2	9(100%)	-	-	-
A3	8(88,9%)	1(11,1%)	-	-
B1	5(66,7%)	1(11,1%)	2(22,2%)	-
B2	4(44,5%)	1(11,1%)	2(22,2%)	2(22,2%)
B3	4(44,5%)	5(55,5%)	-	-
C1	3(33,3%)	4(44,5%)	2(22,2%)	-
C2	4(44,5%)	3(33,3%)	2(22,2)	-
C3	6(66,7%)	3(33,3%)	-	-
D1	7(77,8%)	2(22,2%)	-	-
D2	7(77,8%)	1(11,1%)	-	1(11,1%)
D3	9(100%)	-	-	-

Tabela 07 - Frequência das alterações macroscópicas encontradas nas peças cirúrgicas.

As figuras 5A, 5B e 5C, 6A, 6B e 6C, 7A, 7B e 7C, 8A, 8B e 8C mostram achados macroscópicos de peças cirúrgicas, respectivamente, após gastrotomia, gastroenteroanastomose, gastrectomia a BII e gastrectomia a Y de ROUX, e as soluções ingeridas pelos animais.

Figura 5a. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrotomia e que recebeu apenas água. Notar o aspecto normal da mucosa.

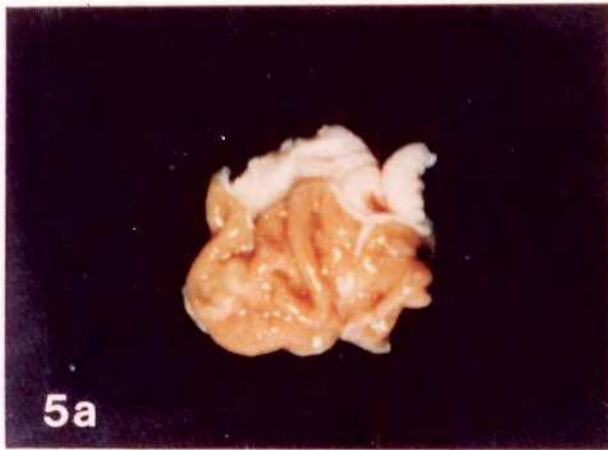
Figura 5b. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrotomia e que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar aspecto normal da mucosa.

Figura 5c. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrotomia e que recebeu composto N-nitroso. Notar aspecto normal da mucosa.

Figura 6a. - Mostra o estômago de animal submetido a gastroenteroanastomose e vagotomia troncular, que recebeu apenas água. Notar aspecto normal da mucosa na anastomose gastrojejunal.

Figura 6b. - Mostra o estômago de animal submetido a gastroenteroanastomose e vagotomia troncular, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar presença de grande úlcera na anastomose gastrojejunal, contendo resíduos alimentares no fundo.

Figura 6c. - Mostra o estômago de animal submetido a gastroenteroanastomose e vagotomia troncular, que recebeu composto N-nitroso. Notar presença de formações tumorais na anastomose gastrojejunal.



5a

|----- 2,4 cm -----|

GASTROTOMIA

Água - 246 dias



6a

|----- 3,6 cm -----|

GASTROENTEROANASTOMOSE

Água - 242 dias

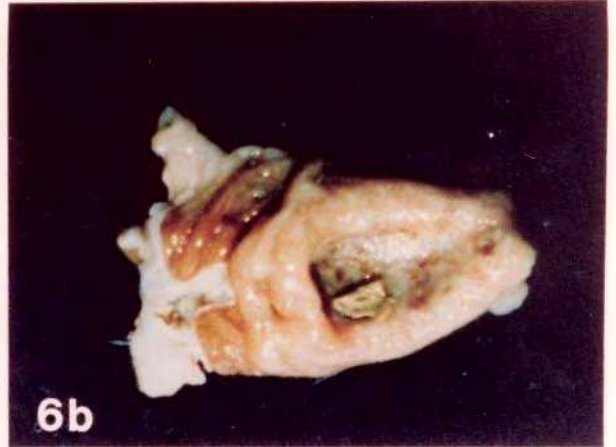


5b

|----- 3,1 cm -----|

GASTROTOMIA

Nitrito + Nitrato - 253 dias



6b

|----- 4,7 cm -----|

GASTROENTEROANASTOMOSE

Nitrito + Nitrato - 244 dias



5c

|----- 2,4 cm -----|

GASTROTOMIA

Solução N-Nitroso - 246 dias



6c

|----- 4,6 cm -----|

GASTROENTEROANASTOMOSE

Solução N-Nitroso - 257 dias

- Figura 7a. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrectomia a BILLROTH II e vagotomia troncular, que recebeu apenas água. Notar mucosa de anastomose gastrojejunal com aspecto normal.
- Figura 7b. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrectomia a BILLROTH II e vagotomia troncular, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar presença de formações tumorais na anastomose gastrojejunal.
- Figura 7c. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrectomia a BILLROTH II e vagotomia troncular, que recebeu composto N-nitroso. Notar presença de formações tumorais e úlcera na anastomose gastrojejunal.
- Figura 8a. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrectomia a Y de ROUX e vagotomia troncular, que recebeu apenas água. Notar mucosa de anastomose gastrojejunal de aspecto normal.
- Figura 8b. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrectomia a Y de ROUX e vagotomia troncular, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar mucosa de anastomose gastrojejunal de aspecto normal.
- Figura 8c. - Mostra o estômago de animal submetido a gastrectomia a Y de ROUX e vagotomia troncular, que recebeu composto N-nitroso. Notar mucosa de anastomose gastrojejunal de aspecto normal.



3,1 cm
GASTRECTOMIA B II
Água - 255 dias



8,9 cm
GASTRECTOMIA Y de ROUX
Água - 234 dias



4,8 cm
GASTRECTOMIA B II
Nitrito + Nitrato - 226 dias



6,5 cm
GASTRECTOMIA Y de ROUX
Nitrito + Nitrato - 243 dias



4,1 cm
GASTRECTOMIA B II
Solução N-Nitroso - 255 dias



7,6 cm
GASTRECTOMIA Y de ROUX
Solução N-Nitroso - 254 dias

Analisando estatisticamente através do Teste do *Qui-Quadrado* os números da tabela 07, e considerando as soluções ingeridas, foi verificado que (ver tabela 29 no apêndice):

a) entre os animais com achados macroscópicos considerados normais, não houve diferença estatística entre as três soluções ingeridas ($P > 0,05$) - (houve diferença significativa entre os grupos ao nível de 10% - $p < 0,10$);

b) entre os animais com achados macroscópicos de tumores, não houve diferença estatística entre as três soluções ingeridas ($P > 0,05$) - (houve diferença significativa entre os grupos ao nível de 10% - $p < 0,10$);

c) entre os animais com achados macroscópicos de úlceras, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os que ingeriram água e solução de nitrito/nitrato, porém não houve diferença entre os que ingeriram composto N-nitroso.

Analisando as alterações macroscópicas e considerando os procedimentos realizados, foi verificado que (ver tabela 30 no apêndice):

a) entre os animais submetidos a gastrotomia e com achados macroscópicos considerados normais, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais procedimentos;

b) entre os animais submetidos a gastroenteroanastomose, gastrectomia a BII e a Y de ROUX e com achados macroscópicos de tumores, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) em relação aos submetidos a gastrotomia;

c) entre os animais submetidos a gastroenteroanastomose e gastrectomia a BII com achados macroscópicos de úlceras, houve diferença significativa ($p < 0,05$) em relação aos submetidos a gastrotomia e gastrectomia a Y de ROUX.

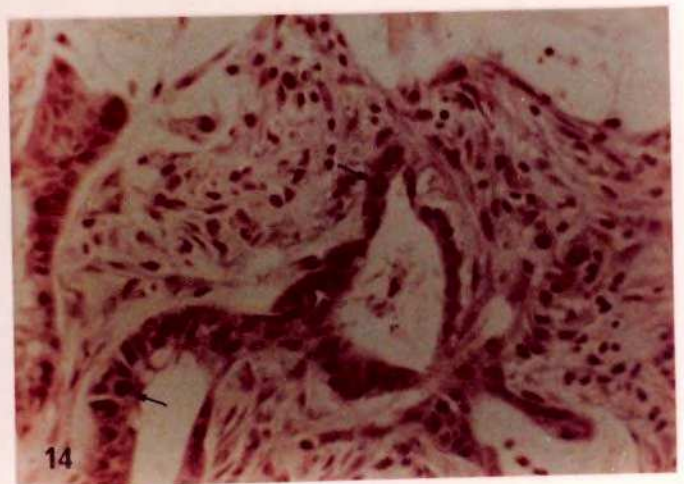
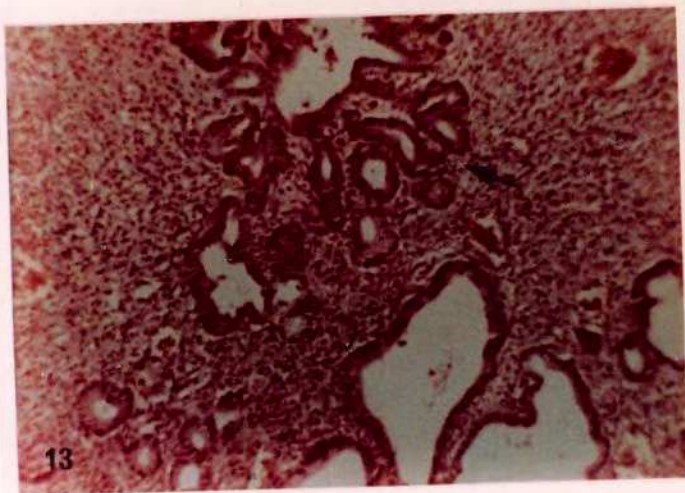
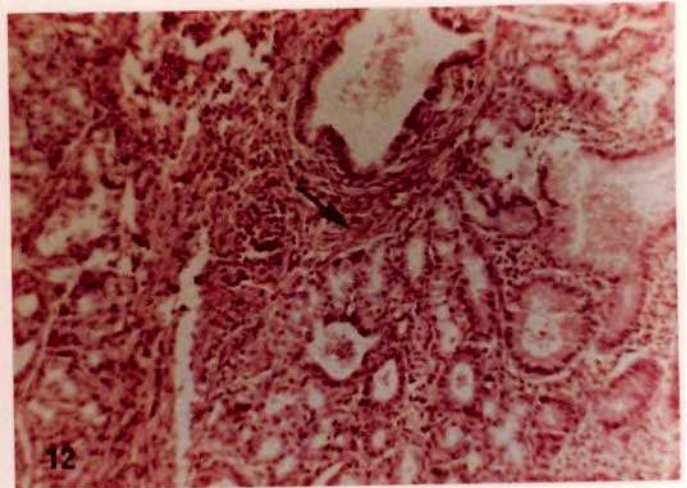
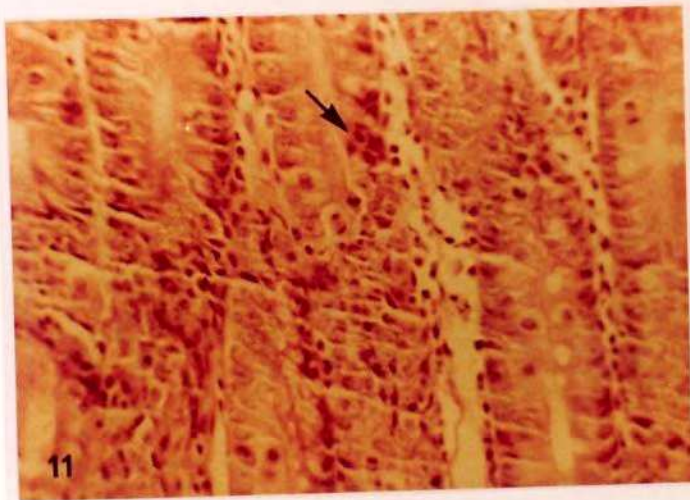
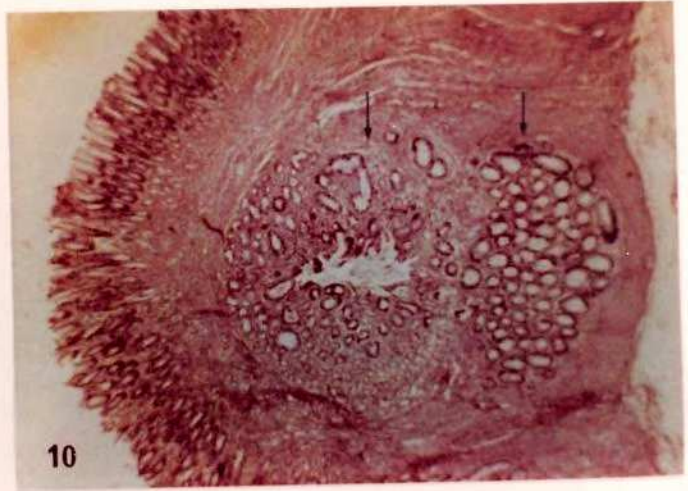
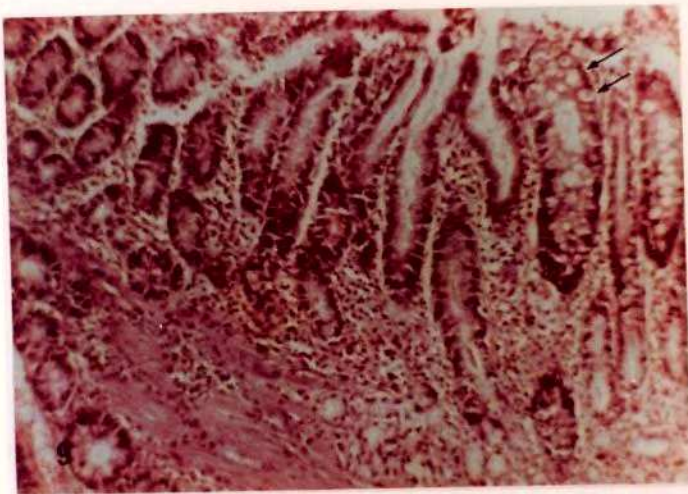
IV.5. ANÁLISE MICROSCÓPICA do ESTÔMAGO OPERADO

A análise microscópica dos fragmentos retirados das peças cirúrgicas revelou que as alterações histopatológicas ocorreram com maior frequência na anastomose gastrojejunal e tecidos adjacentes e constaram de:

- a) Tecido Normal (NI): quando nenhuma alteração foi registrada e o aspecto à microscopia era de estômago normal;
- b) Gastrite Crônica (G.C.): infiltrado inflamatório crônico inespecífico linfoplasmocitário, em alguns com neutrófilos outros com eosinófilos (Fig. 9);
- c) Metaplasia Intestinal (Met.): quando, além do infiltrado inespecífico acima descrito, foram encontradas células com aspecto de metaplasia (Fig. 9);
- d) Hiperplasia Glandular Cística (H.G.C.): proliferação epitelial glandular intensa, com aspectos císticos, acinosos, foliculares, papilíferos e alveolares (Figs. 10 e 13);
- e) Displasia (Disp.): quando, além da hiperplasia glandular acima descrita, foi encontrado alteração arquitetural do epitélio glandular normal, com total desarranjo e mascaramento das estruturas parietais normais. As células apresentavam aspecto displásico exuberante, atípicas, com núcleos hipercromáticos, de forma e tamanho irregulares, resultando em aumento na espessura das diversas camadas parietais, tanto no segmento gástrico quanto do entérico (Figs. 11 e 12);
- f) Carcinoma (Ca.): quando, além do aspecto displásico acima referido as células apresentavam intensas atipias, mascarando as estruturas pré-existentes, assumindo arranjos neoplásicos e invasivos, comprometendo inclusive as camadas musculares (Figs. 12, 13 e 14).

- Figura 9 - Microfotografia com aumento de 200 vezes do corte histológico da anastomose gastrojejunal de animal submetido a gastroenteroanastomose e vagotomia troncular, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar presença de metaplasia intestinal, identificada pelas "setas" (coloração hematoxilina-eosina).
- Figura 10 - Microfotografia com aumento de 100 vezes de corte histológico da anastomose gastrojejunal de animal submetido a gastrectomia a BILLROTH II e vagotomia troncular, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar a presença evidente de hiperplasia glandular cística infiltrando a submucosa, identificada pelas "setas". A mucosa apresenta aspecto de gastrite crônica e metaplasia intestinal (coloração hematoxilina-eosina)
- Figura 11 - Microfotografia com aumento de 400 vezes de corte histológico de anastomose gastrojejunal de animal submetido a gastrectomia a BILLROTH II, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar presença de hiperplasia glandular cística infiltrando a submucosa e células glandulares com evidente aspecto displásico (coloração hematoxilina-eosina).

- Figura 12 - Microfotografia com aumento de 200 vezes de corte histológico da anastomose gastrojejunal de animal submetido a gastroenteroanastomose e vagotomia troncular, que recebeu composto N-nitroso. Notar presença de hiperplasia glandular cística evidente, além de células glandulares com aspecto irregular, hipercromatismo e pleiomorfismo nucleares sugestivos de carcinoma, identificado pelas "setas" (coloração hematoxilina-eosina).
- Figura 13 - Microfotografia com aumento de 200 vezes de corte histológico da anastomose gastrojejunal de animal submetido a gastrectomia a BILLROTH II e vagotomia troncular, que recebeu mistura de nitrito + nitrato. Notar presença de hiperplasia glandular cística acompanhado de pleiomorfismo nuclear, sugestivo de carcinoma e com aspecto invasivo, identificado pela "seta" (coloração hematoxilina-eosina).
- Figura 14 - Microfotografia com aumento de 800 vezes de corte histológico da anastomose gastrojejunal de animal submetido a gastroenteroanastomose e vagotomia troncular, que recebeu composto N-nitroso. Notar pleiomorfismo e hipercromatismo nucleares sugestivos de carcinoma, identificados pelas "setas" (coloração hematoxilina-eosina).



Para a análise das alterações encontradas em cada animal de cada grupo, foi considerado achado histopatológico mais exuberante. Assim, dividimos conforme o tipo de solução ingerida e o tipo de procedimento realizado no animal.

A tabela 08 e o gráfico 08, a tabela 09 e o gráfico 09 e a tabela 10 e o gráfico 10 mostram os achados histopatológicos, conforme os procedimentos realizados nos animais que ingeriram, respectivamente, água, solução de nitrito + nitrato e solução de composto N-nitroso. As porcentagens foram calculadas do total de animais de cada grupo que ingeriram as referidas soluções (36 animais).

A tabela 11 e o gráfico 11 mostram as alterações histopatológicas encontradas, respectivamente, conforme as soluções ingeridas em todos os grupos. As porcentagens foram calculadas do total de 108 animais.

Para efeito de análise estatística, os achados histopatológicos foram divididos em grupos.

Assim, empregando o Teste do *Qui-Quadrado* para comparar as alterações histopatológicas conforme a solução ingerida, foi verificado que (ver tabela 31 no apêndice):

a) comparando os achados NI.- G.C. - Met. com os achados H.G.C. - Disp. - Ca., houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os três tipos de soluções ingeridas pelos animais. Os achados H.G.C. - Disp. - Ca. foram significantes entre os animais que ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso;

b) comparando apenas os achados de G.C., não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) - (houve diferença significativa entre as soluções a nível de 7% - $p = 0,0669$, $p < 7\%$);

c) comparando apenas os achados de H.G.C., não houve diferença estatística significativa entre as soluções ($p > 0,05$);

d) não foi registrado achado de Ca. entre os animais que ingeriram água, não

ocorrendo diferença significativa entre os que ingeriram nitrito/nitrato e composto N-nitroso ($p > 5\%$);

e) comparando os achados NI.- Met. com os achados H.G.C. e os achados Disp.-Ca., entre os animais que ingeriram nitrito/nitrato e composto N-nitroso, foi verificado que não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$).

Considerando os procedimentos realizados nos animais, as tabelas abaixo mostram respectivamente as alterações histopatológicas encontradas.

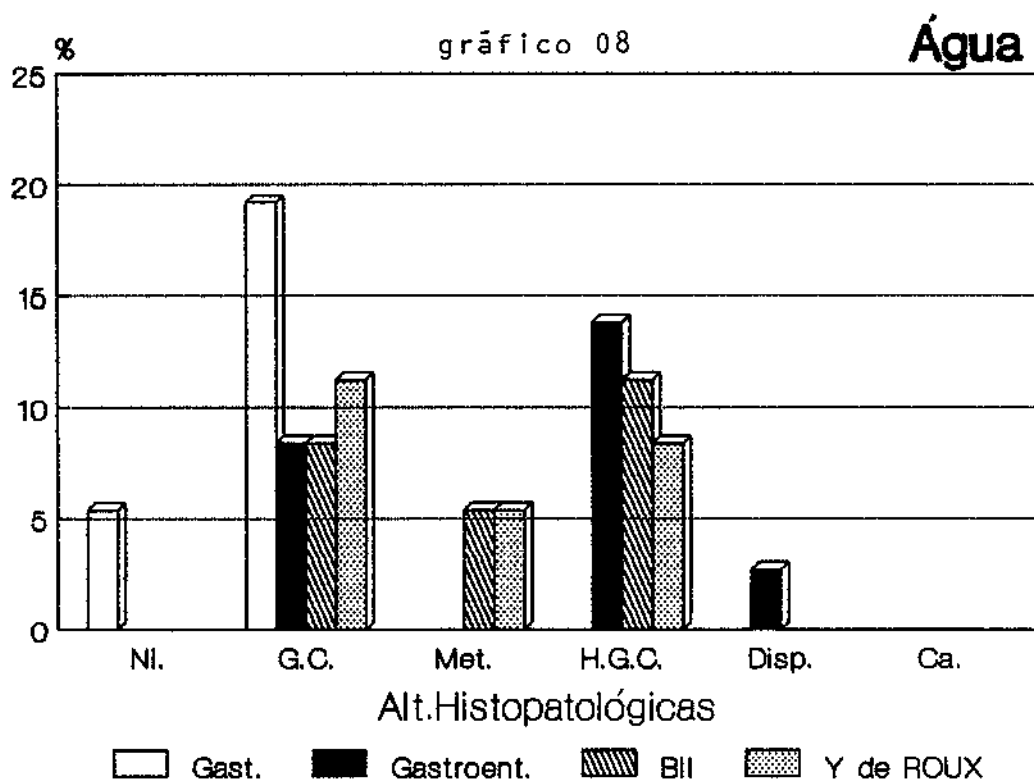
A tabela 12 e a figura 15, a tabela 13 e a figura 16, a tabela 14 e a figura 17 e a tabela 5 e a figura 18 mostram as alterações histopatológicas nos animais submetidos, respectivamente, a gastrotomia, gastroenteroanastomose + vagotomia troncular, gastrectomia a BII + vagotomia troncular e gastrectomia a Y de ROUX + vagotomia troncular. As porcentagens foram calculadas do total de animais submetidos a cada procedimento (27 animais).

A tabela 16 e o gráfico 12 mostram as alterações histopatológicas conforme os tipos de procedimentos realizados em todos os grupos. As porcentagens foram calculadas do total de 108 animais.

tabela 08

Cirurgias	Achados Histopatológicos					
	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
Gastrotomia	2 (5,4%)	7 (19,2%)	-	-	-	-
Gastroentero	-	3 (8,4%)	-	5 (13,8%)	1 (2,7%)	-
Gastrectomia BII	-	3 (8,4%)	2 (5,4%)	4 (11,2%)	-	-
Gastrectomia Y de ROUX	-	4 (11,2%)	2 (5,4%)	3 (8,4%)	-	-
Total	2 (5,4%)	17 (47,2%)	4 (11,2%)	12 (33,4%)	1 (2,7%)	-

A tabela 08 mostra as alterações histopatológicas encontradas conforme os procedimentos realizados, nos animais que ingeriram apenas água. No gráfico 08 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%)



(Nl.-Normal; G.C.-Gastrite Crônica; Met.-Metaplasia Intestinal; H.G.C. - Hiperplasia Glandular Cística; Disp.-Displasia; Ca.-Carcinoma; Gast. - Gastrotomia; Gastroent.-Gastroenteroanastomose + V.T.; BII-gastrectomiaa BILLROTH II + V.T.; Y de ROUX-gastrectomia a Y de ROUX + V.T.)

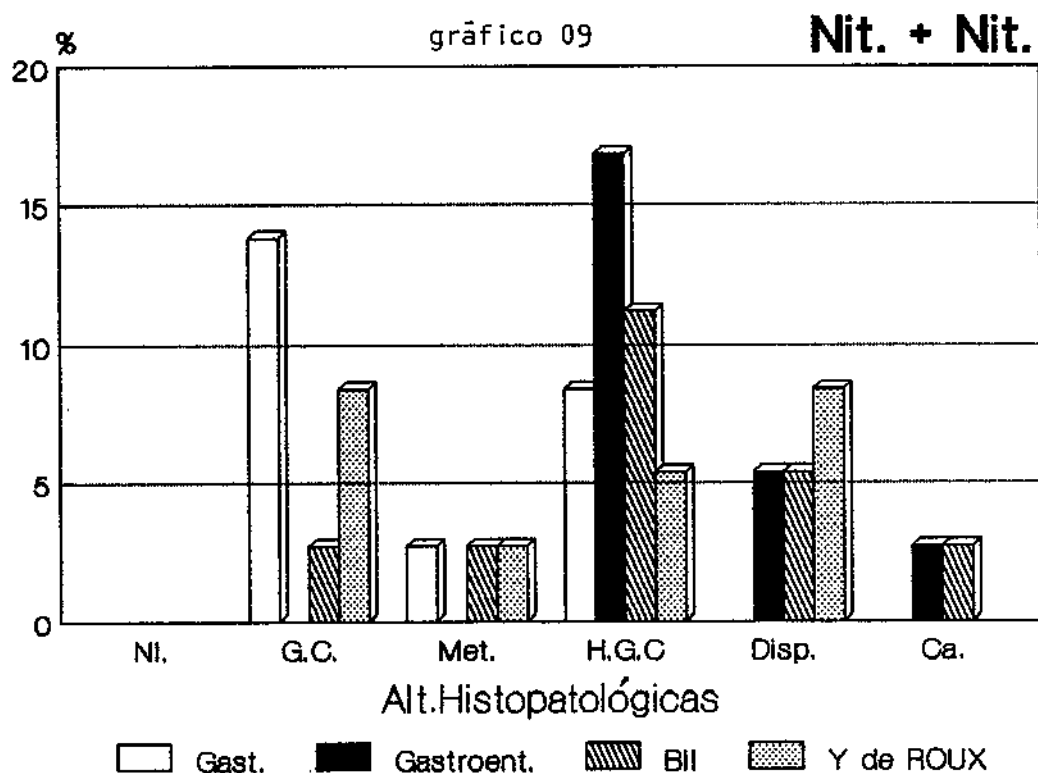
tabela 09

Cirurgias

Achados Histopatológicos

	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
Gastrotomia	-	5 (13,8%)	1 (2,7%)	3 (8,4%)	-	-
Gastroentero	-	-	-	6 (16,8%)	2 (5,4%)	1 (2,7%)
Gastrectomia BII	-	1 (2,7%)	1 (2,7%)	4 (11,2%)	2 (5,4%)	1 (2,7%)
Gastrectomia Y de ROUX	-	3 (8,4%)	1 (2,7%)	2 (5,4%)	3 (8,4%)	-
Total	-	9 (25%)	3 (8,4%)	15 (41,8%)	7 (19,2%)	2 (5,4%)

A tabela 09 mostra as alterações histopatológicas encontradas conforme os procedimentos realizados, nos animais que ingeriram solução de nitrito + nitrato. No gráfico 09 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%).

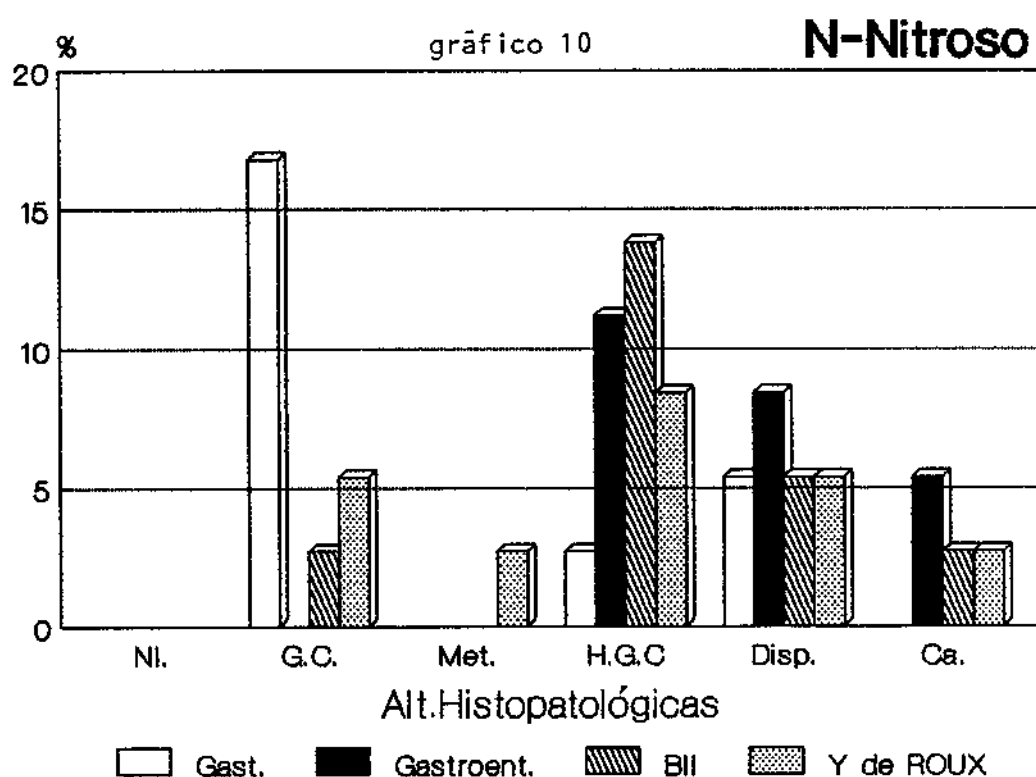


(NI - Normal; G.C. - Gastrite Crônica; Met. - Metaplasia Intestinal; H.G.C. - Hiperplasia Glandular Cística; Disp. - Displasia; Ca. - Carcinoma; Gast. - Gastrotomia; Gastroent. - Gastroenteroanastomose + V.T.; BII - gastrectomia a BILLROTH II + V.T.; Y de ROUX - gastrectomia a Y de ROUX + V.T.)

tabela 10

Cirurgias	Achados Histopatológicos					
	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
Gastrotomia	-	6 (16,8%)	-	1 (2,7%)	2 (5,4%)	-
Gastroentero	-	-	-	4 (11,2%)	3 (8,4%)	2 (5,4%)
Gastrectomia BII	-	1 (2,7%)	-	5 (13,8%)	2 (5,4%)	1 (2,7%)
Gastrectomia Y de ROUX	-	2 (5,4%)	1 (2,7%)	3 (8,4%)	2 (5,4%)	1 (2,7%)
Total	-	9 (25%)	1 (2,7%)	13 (36,1%)	9 (25%)	4 (11,2%)

A tabela 10 mostra as alterações histopatológicas encontradas conforme os procedimentos realizados, nos animais que ingeriram solução de composto N-nitroso. No gráfico 10 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%).

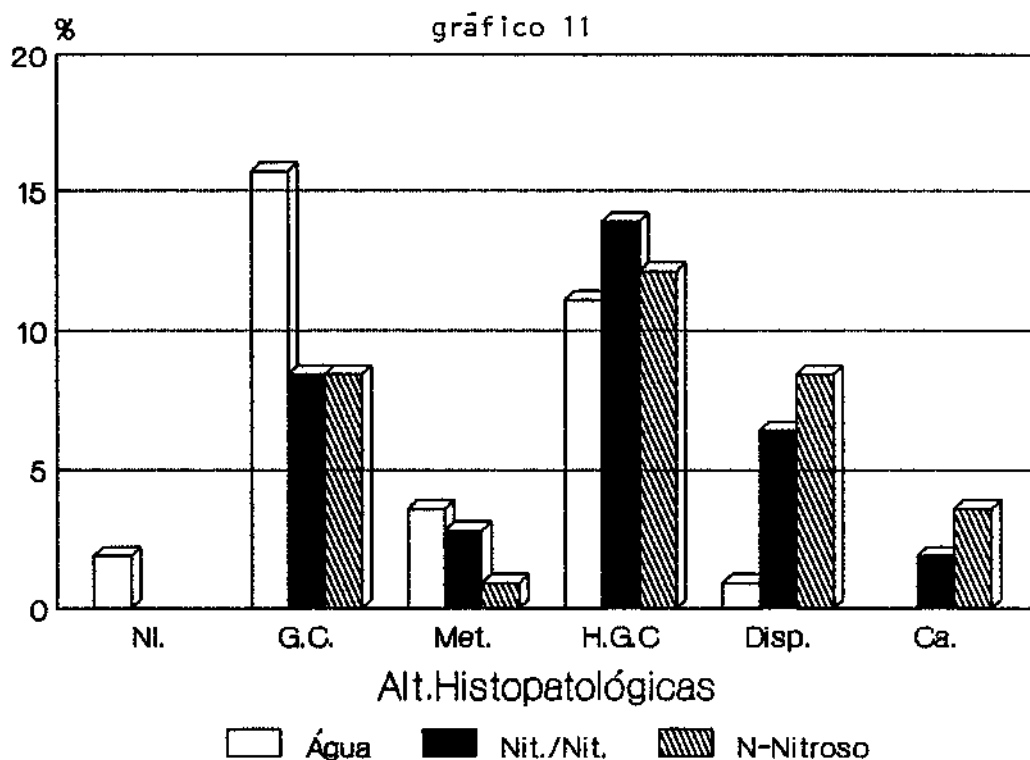


(NI.-Normal; G.C.-Gastrite Crônica; Met.-Metaplasia Intestinal; H.G.C. - Hiperplasia Glandular Cística; Disp.-Displasia; Ca.-Carcinoma; Gast. - Gastrotomia; Gastroent.-Gastroenteroanastomose + V.T.; BII-gastrectomia a BILLROTH II + V.T.; Y de ROUX-gastrectomia a Y de ROUX + V.T.)

tabela 11

Soluções	Achados Histopatológicos					
	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
Água	2 (1,9%)	17 (15,7%)	4 (3,6%)	12 (11,1%)	1 (0,9%)	-
Nitrito+Nitrato	-	9 (8,4%)	3 (2,8%)	15 (13,9%)	7 (6,4%)	2 (1,9%)
N-Nitroso	-	9 (8,4%)	1 (0,9%)	13 (12,1%)	9 (8,4%)	4 (3,6%)
Total	2 (1,9%)	35 (32,5%)	8 (7,3%)	40 (37%)	17 (15,7%)	6 (5,5%)

A tabela 11 mostra as alterações histopatológicas encontradas conforme as soluções ingeridas, em todos os grupos. No gráfico 11 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%).



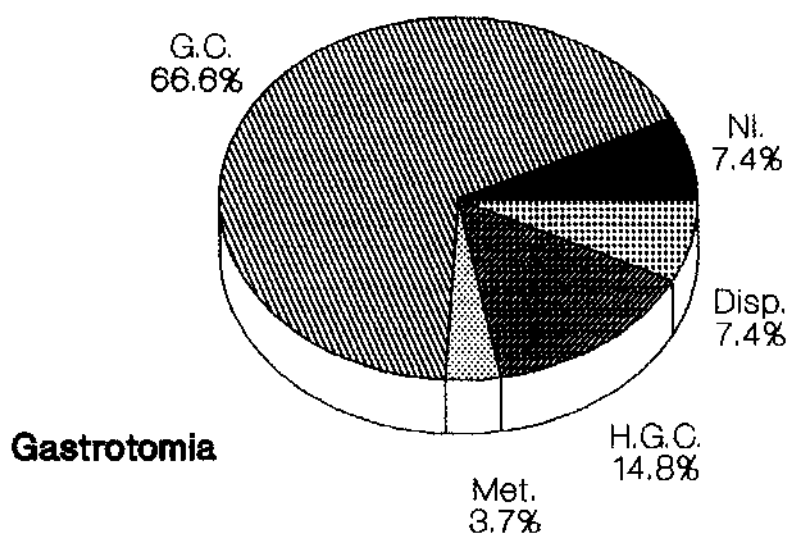
(Nl.-Normal; G.C.-Gastrite Crônica; Met.-Metaplasia Intestinal; H.G.C.-Hiperplasia Glandular Cística; Disp.- Displasia; Ca. - Carcinoma)

tabela 12

Grupos	Achados Histopatológicos					
	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
A1	2 (7,4%)	7 (25,9%)	-	-	-	-
A2	-	5 (18,5%)	1 (3,7%)	3 (11,1%)	-	-
A3	-	6 (22,2%)	-	1 (3,7%)	2 (7,4%)	-
Total	2 (7,4%)	18 (66,6%)	1 (3,7%)	4 (14,8%)	2 (7,4%)	-

A tabela 12 mostra as alterações histopatológicas encontradas nos animais submetidos a gastrotomia. Na figura 15 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%).

Figura 15



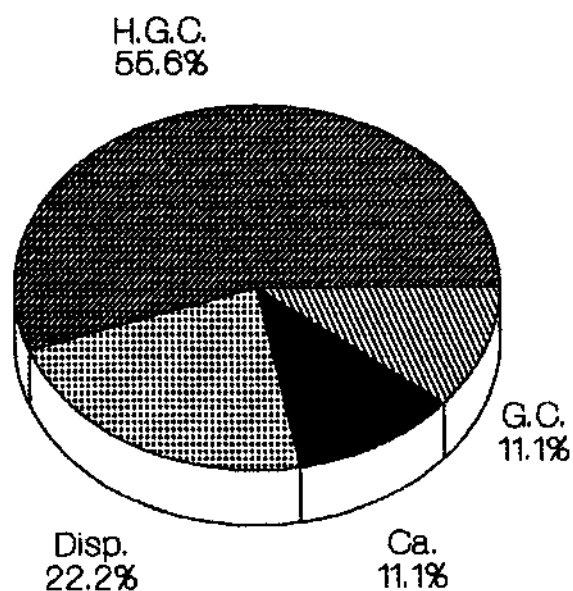
(Nl) -Normal; G.C.-Gastrite Crônica; Met.-Metaplasia Intestinal; H.G.C.-Hiperplasia Glandular Cística; Disp.- Displasia; Ca. - Carcinoma)

tabela 13

Grupos	Achados Histopatológicos					
	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
B1	-	3 (11,1%)	-	5 (18,5%)	1 (3,7%)	-
B2	-	-	-	6 (22,2%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)
B3	-	-	-	4 (14,8%)	3 (11,1%)	2 (7,4%)
Total	-	3 (11,1%)	-	15 (55,6%)	6 (22,2%)	3 (11,1%)

A tabela 13 mostra as alterações histopatológicas encontradas nos animais submetidos a gastroenteroanastomose. Na figura 16 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%).

Figura 16



Gastroenteroanastomose

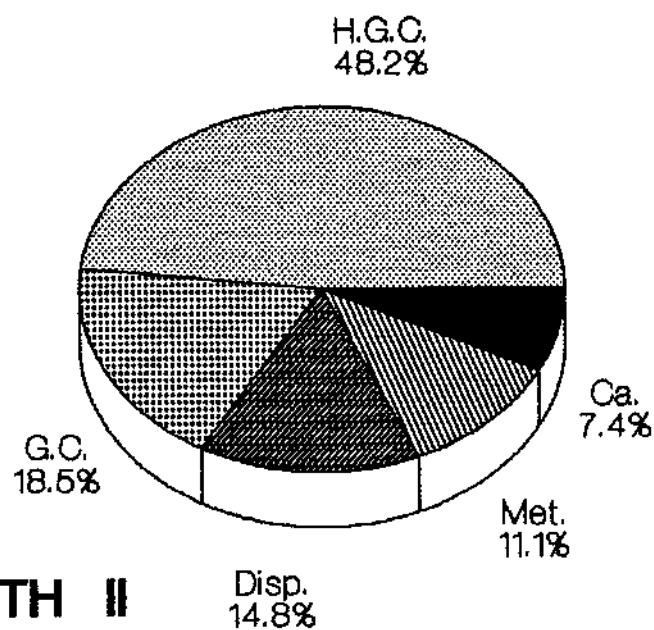
(Nl.- Normal; G.C.-Gastrite Crônica; Met.-Metaplasia Intestinal; H.G.C.- Hiperplasia Glandular Cística; Disp.- Displasia; Ca. - Carcinoma)

tabela 14

Grupos	Achados Histopatológicos					
	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
C1	-	3 (11,1%)	2 (7,4%)	4 (14,8%)	-	-
C2	-	1 (3,7%)	1 (3,7%)	4 (14,8%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)
C3	-	1 (3,7%)	-	5 (18,5%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)
Total	-	5 (18,5%)	3 (11,1%)	13 (48,2%)	4 (14,8%)	2 (7,4%)

A tabela 14 mostra as alterações histopatológicas encontradas nos animais submetidos a gastrectomia a BII. Na figura 17 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%)

Figura 17

**BILLROTH II**

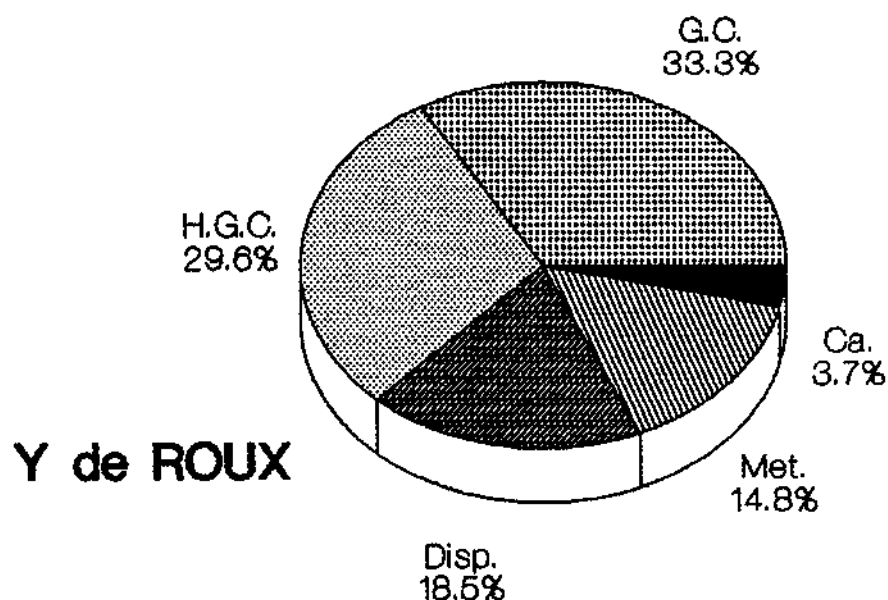
(Nl. - Normal; G.C. - Gastrite Crônica; Met. - Metaplasia Intestinal; H.G.C. - Hiperplasia Glandular Cística; Disp. - Displasia; Ca. - Carcinoma)

tabela 15

Grupos	Achados Histopatológicos					
	NI.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
D1	-	4 (14,8%)	2 (7,4%)	3 (11,1%)	-	-
D2	-	3 (11,1%)	1 (3,7%)	2 (7,4%)	3 (11,1%)	-
D3	-	2 (7,4%)	1 (3,7%)	3 (11,1%)	2 (7,4%)	1 (3,7%)
Total	-	9 (33,3%)	4 (14,8%)	8 (29,6%)	5 (18,5%)	1 (3,7%)

A tabela 15 mostra as alterações histopatológicas encontradas nos animais submetidos a gastrectomia a Y de ROUX. Na figura 18 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens (%).

Figura 18



(NI - Normal; G.C.-Gastrite Crônica; Met. Metaplasia Intestinal; H.G.C.- Hiperplasia Glandular Cística; Disp. - Displasia; Ca. - Carcinoma)

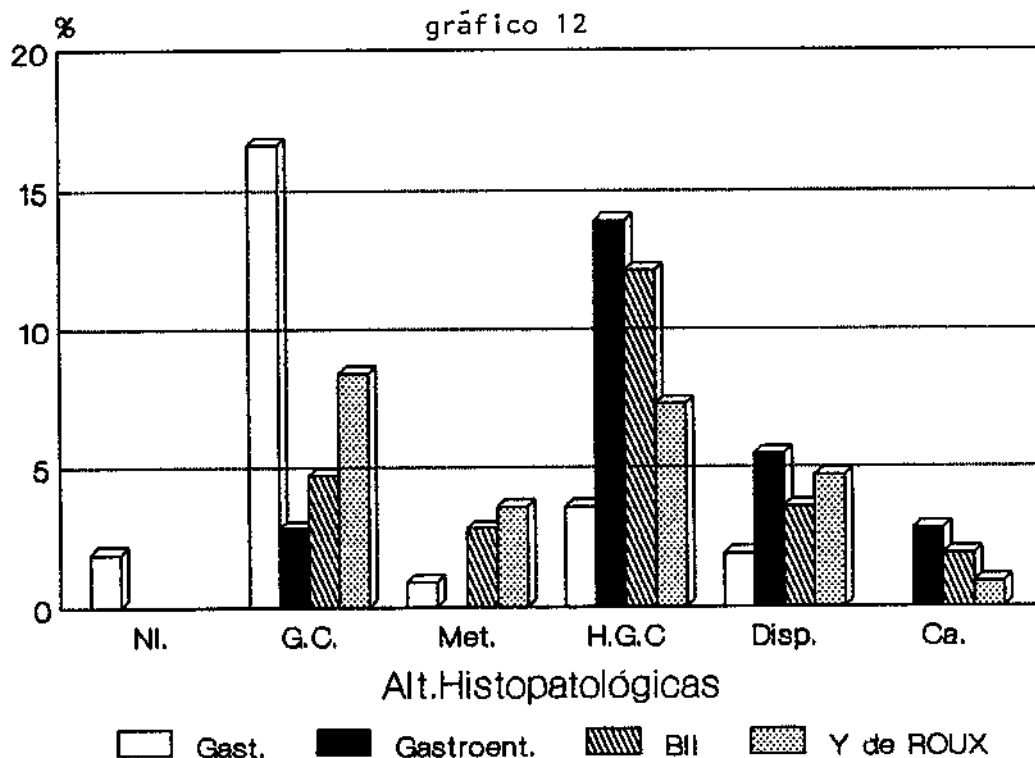
tabela 16

Cirurgias

Achados Histopatológicos

	Nl.	G.C.	Met.	H.G.C.	Disp.	Ca.
Gastrotomia	2 (1,9%)	18 (16,6%)	1 (0,9%)	4 (3,6%)	2 (1,9%)	-
Gastroentero	-	3 (2,8%)	-	15 (13,9%)	6 (5,5%)	3 (2,8%)
Gastrectomia BII	-	5 (4,7%)	3 (2,8%)	13 (12,1%)	4 (3,6%)	2 (1,9%)
Gastrectomia Y de ROUX	-	9 (8,4%)	4 (3,6%)	8 (7,3%)	5 (4,7%)	1 (0,9%)
Total	2 (1,9%)	35 (32,5%)	8 (7,3%)	40 (37%)	17 (15,7%)	6 (5,5%)

A tabela 16 mostra as alterações histopatológicas conforme os tipos de procedimentos cirúrgicos realizados. No gráfico 12 abaixo estas alterações são mostradas em porcentagens(%).



(NI-Normal; G.C.- Gastrite Crônica; Met.-Metaplasia Intestinal; H.G.C.- Hiperplasia Glandular Cística; Disp.-Displasia; Ca.-Carcinoma; Gast. Gastrotomia; Gastroent.-Gastroenteroanastomose + V.T.; BII-gastrectomia a BILLROTH II + V.T.; Y de ROUX- gastrectomia a Y de ROUX + V.T.)

Para efeito de análise estatística os achados histopatológicos foram divididos em grupos.

Assim, empregando o Teste do *Qui-Quadrado* para comparar os achados histopatológicos conforme o procedimento realizado, foi verificado que (ver tabela 32 no apêndice):

a) comparando os achados NI.- G.C. - Met. com os achados H.G.C. - Disp. - Ca., houve diferença estatística significativa ($p < 5\%$) entre os procedimentos realizados. Comparando-se tanto gastrotomia/gastroentero com gastrectomia a BII/gastrectomia a Y de ROUX, como gastrotomia com gastroentero/gastrectomia a BII/gastrectomia a Y de ROUX, foi verificado que entre os animais submetidos a estes últimos procedimentos os achado de H.G.C. - Disp. - Ca. foram mais significativos ($p < 0,05$);

b) comparando apenas os achados de G.C., houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os procedimentos realizados, sendo mais frequente nos submetidos a gastrotomia;

c) comparando apenas os achados de H.G.C., entre os procedimentos gastrotomia/gastroentero e gastrectomia a BII/gastrectomia a Y de ROUX, foi verificado que foram mais frequentes entre estes dois últimos procedimentos, com diferença estatística significativa ($p < 0,05$);

d) comparando os achados NI.- Met. com H.G.C. e com Disp.- Ca , entre os animais submetidos a gastroentero, gastrectomia a BII e gastrectomia a Y de ROUX, foi verificado que não houve diferença estatística significativa, a nível de 5%, ($p > 0,05$), porém houve diferença significativa a nível de 6% ($p = 0,0546$, $p < 0,06$).

Comparando os achados histopatológicos H.G.C. - Disp.- Ca. e Disp.- Ca. (tabelas 31 e 32 no apêndice) secundários à ingestão de nitrito + nitrato/composto N-nitroso e aos procedimentos gastroenteroanastomose/gastrectomia a BII/gastrectomia

a Y de ROUX, colocados na tabela 17 a seguir, foi verificado que não houve diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$):

	H.G.C./Disp./Ca.	Disp./Ca.
Nit.+Nit./composto N-nitroso	50 animais (64,4%)	22 animais (30,5%)
Gastroentero/Gast. BII/Gast.Y de ROUX	57 animais (70,3%)	21 animais (26%)

Tabela 17 - Análise comparativa entre os achados microscópicos de H.G.C./Disp./Ca. e Disp./Ca e o número de animais que ingeriram soluções de Nit + Nit./composto N-nitroso e foram submetidos a Gastroentero/Gast.BII e Gast.Y de ROUX.

Além destas principais alterações encontradas, outras alterações histopatológicas gerais foram registradas, tais como a ocorrência de granulomas tipo corpo estranho, secundários ao fio de sutura. Em alguns deles, o fio estava presente e em outros constataram-se apenas imagens negativas de fios pré-existentes, em torno das quais reação granulomatosa em diversas fases evolutivas. Foram observados granulomas abscedados, necrosados, com calcificações distróficas e tecido de granulação. Dois destes granulomas mostraram-se constituídos de eosinófilos, enquanto outros, de células gigantes tipo corpo estranho.

Vale ressaltar que os fenômenos exsudativos foram inexpressivos quando comparados aos produtivos presentes, principalmente nas áreas de reação granulomatosa. Estas citadas alterações histopatológicas não foram objeto de análise mais profunda, uma vez que não eram objetivo principal desta pesquisa.

V

DISCUSSÃO

V.1. O RISCO de CÂNCER do COTO GÁSTRICO

Vários estudos têm sido feitos para estimar o risco de desenvolvimento do câncer do coto gástrico como sequela do tratamento cirúrgico para úlcera péptica.

A estimativa do risco de um doente gastrectomizado adquirir carcinoma pode ser expressada como a relação entre o número de casos de câncer de coto gástrico observados e o número de casos esperados, em uma mesma população, usando para este cálculo estatístico a análise actuarial. Além disso, métodos retrospectivos ou prospectivos têm sido também empregados, baseados em incidência, mortalidade ou prevalência da doença. Da mesma forma, esta estimativa pode ser comparada com o risco de indivíduos da mesma população e não operados, em adquirir câncer gástrico (LOGAN & LANGMAN, 1983; FISCHER & GRAEM, 1988).

STALSBERG (1971) estimou que o risco relativo de desenvolvimento de câncer no gastrectomizado aumenta oito vezes mais que o da população geral após 35 anos ou mais da cirurgia prévia e concluiu que a idade mais frequente do aparecimento deste tipo de câncer é na sexta e sétima décadas de vida.

FISCHER et al. (1983) revisando 1000 doentes gastrectomizados a BII para tratar úlcera duodenal em Copenhague, na Dinamarca, encontraram 13 neoplasias de coto gástrico, 22 a 30 anos após a cirurgia inicial. Este número não foi significativamente diferente dos 10,6 casos esperados para este grupo de doentes, baseado no cálculo através do método de tábua de vida e estandarizado para idade, sexo, local de residência e tempo. Ao comparar com ocorrência da doença na população e entre os não gastrectomizados, concluíram que os gastrectomizados a BII devido úlcera duodenal têm risco bem mais elevado de desenvolver câncer gástrico que o da população geral.

A revisão de 3470 doentes que tiveram cirurgia gástrica para tratar doença benigna entre 1900 e 1969, feita por VISTE et al. (1986) na Noruega, mostraram 87 casos (2,2%) de câncer do coto gástrico diagnosticados entre 1970 e 1984. Comparando com a incidência total de câncer gástrico na mesma região, durante o mesmo período de tempo, estes autores verificaram que a sua ocorrência no doente gastrectomizado foi duas vezes maior e não diferiram entre os dois sexos. Além disso, após 5 a 10 anos de pós-operatório, este risco não foi diferente do total da população, entretanto, 40 a 45 anos após foi 7,3 vezes maior, não teve relação com a doença gástrica inicial, nem com o tipo de reconstrução.

CLARK et al. (1985) analisando várias publicações sobre câncer do coto gástrico, relatam que embora alguns autores encontrem grande número de portadores da doença em gastrectomizados, nem sempre a diferença é significativa com a incidência na população geral. Porém, concluem e enfatizam que doentes que desenvolvem sintomas gástricos, mesmo que leves, 5 ou mais anos após a cirurgia gástrica prévia, requerem avaliação periódica do trato digestivo, incluindo principalmente endoscopia digestiva.

Na revisão de OFFERHAUS et al., (1988), analisando a mortalidade devido câncer gástrico em 2633 doentes gastrectomizados por condições benignas entre 1931 e 1960 em Amsterdam, na Holanda, concluíram que foi significativamente maior que a da população geral. Além disso, verificaram que possíveis discrepâncias sobre a questão nas publicações dos Estados Unidos e da Europa podem ser explicadas pelas diferenças do tempo de seguimento dos doentes nos estudos analisados.

LUNDEGARDH et al. (1988) estudaram o risco de aparecimento de câncer do coto gástrico em 6459 pacientes gastrectomizados e verificaram que após 19 anos de pós-operatório tende a aumentar progressivamente.

MOLLER & TOFTGAARD (1991) analisaram o risco de um total de 4107 doentes gastrectomizados por úlcera péptica na Dinamarca de adquirir câncer do coto

gástrico, e concluíram que após 25 anos de pós-operatório, atinge duas vezes mais em comparação à população de doentes não gastrectomizados.

Em resumo, as evidências são seguras de que ocorre um aumento no risco de câncer gástrico após gastrectomia e gastroenteroanastomose, entretanto é improvável que este risco seja a curto prazo de pós-operatório. Nos primeiros 10 anos após a cirurgia, o risco é inferior que o da população em geral. Após 15 anos, se houver risco, é pequeno. Em contraste, o risco relativo é muito maior 20 a 30 após a cirurgia inicial, podendo atingir 4 a 6 vezes ao da população.

Quanto ao risco de ocorrência de câncer em outros locais do corpo humano após a gastrectomia, CAYGILL et al. (1987) referem que os doentes gastrectomizados tem quatro vezes mais risco de desenvolver câncer brônquico e câncer pancreático, 9,1 vezes mais risco de câncer de intestino grosso e 2,3 vezes mais de câncer do esôfago, em comparação a doentes não gastrectomizados. WATT et al. (1984b) também observaram risco mais elevado de câncer do esôfago, colorretal, pâncreas, mama e pulmões (embora apenas mama e colorretal foram estatisticamente significantes), e ROSS et al. (1982) registraram risco estatisticamente elevado de câncer de pulmões, pâncreas e colorretal. INOKUCHI et al. (1988), após analisarem a mortalidade por câncer de 3827 pacientes japoneses gastrectomizados por doença gastroduodenal benigna, concluíram que a incidência de câncer do fígado, pulmões e colorretal foi significativamente maior que a esperada na população.

Não esquecer que os doentes portadores de úlcera péptica são também fumantes e etilistas. Portanto, existe a possibilidade de que o risco elevado de câncer em outros locais decorra deste fato e de outros fatores predisponentes comuns à cirurgia gástrica e a estes outros cânceres descritos. Mais pesquisas no futuro são necessárias para aproximar-se mais da solução da questão.

V.2. A DOENÇA GÁSTRICA PRÉVIA e CÂNCER do COTO GÁSTRICO

Analisando o total de 25 publicações mostradas na Tabela 01, na Introdução deste trabalho, totalizando 1558 portadores de câncer do coto gástrico revisados em 14 publicações, a conclusão é que o câncer acomete doentes previamente gastrectomizados para tratar úlcera duodenal.

Os primeiros autores que se preocuparam com a questão foram HELSINGEN & HILLESTAD (1956) que encontraram que os pacientes portadores de úlcera gástrica operados desenvolveram mais tarde o câncer do coto gástrico mais frequentemente que aqueles operados por úlcera duodenal. Entretanto, tal afirmação não foi comprovada por outros autores que revisaram a questão nos últimos anos.

KIDOKORO et al. (1985) baseados em pesquisa realizada em 98 instituições japonesas, revisando o total de 613 doentes portadores de carcinoma de coto gástrico, afirmam que doentes previamente submetidos a gastrectomia para tratar úlcera duodenal têm menor probabilidade de desenvolverem câncer no futuro. Nesta revisão estes doentes representaram 11,1% e 6,5%, respectivamente, de carcinomas precoces e avançados do coto gástrico.

CAYGILL et al. (1986) que revisaram 4466 doentes com gastrectomia BI ou BII operados em 1940 e 1960, no *Saint James Hospital*, em Londres, concluíram que os doentes operados por úlcera duodenal nos primeiros 20 anos de seguimento não tiveram incidência aumentada deste tipo de câncer. Porém, após os 20 anos, a chance de desenvolver câncer de coto gástrico foi 3 a 7 vezes mais que na população normal. Quanto aos doentes operados de úlcera gástrica, houve aumento de 3 vezes mais em adquirir câncer de coto gástrico nos primeiros 20 anos, elevando-se para 5,5 vezes após 20 anos de seguimento. Porém, VISTE et al., (1986) e OFFERHAUS et al., (1988) nas suas revisões não encontraram nenhuma associação do carcinoma do coto com a localização prévia da úlcera.

Os autores que verificaram que a incidência de carcinoma de coto gástrico foi em doentes previamente operados de úlcera duodenal (TOTTEN et al., 1983; CAYGILL et al., 1986), relatam que são duas as razões deste fato: 1) a úlcera duodenal acomete indivíduos em faixa etária jovem, abaixo do 40 anos. Portanto, há um longo intervalo no qual o câncer pode aparecer e, como já foi anteriormente mencionado, o intervalo de tempo é importante; 2) a úlcera duodenal tem ocorrência maior na população e em decorrência disto o número de ressecções gástricas realizadas para o seu tratamento e referida nas publicações é bem maior que para as úlceras gástricas.

Outro fator a ser considerado é que nenhum dos autores classificou as úlceras segundo os critérios de JOHNSON (1965), uma vez que um bom número de úlceras pilóricas ou duodenais podem estar incluídas no grupo de portadores de úlceras gástricas. Assim, DOMELLOFF et al. (1977), ao empregarem a referida classificação nos doentes que revisaram, não encontraram diferenças significativas quanto à doença gástrica prévia que motivou a realização da gastrectomia.

Desta forma, mais estudos ainda são necessários para esclarecer a questão.

V.3. O TIPO de RECONSTRUÇÃO e o CÂNCER de COTO GÁSTRICO

Nas publicações constantes da Tabela 01, em cerca de 85% dos doentes descritos o carcinoma de coto gástrico desenvolveu-se após a gastrectomia BII. Assim, a técnica de reconstrução parece ter relação com a sua incidência, fato este demonstrado pela maioria dos estudos clínicos e experimentais.

A reconstrução do trânsito digestivo após gastrectomia parcial resulta no fato de que a mucosa gástrica fica exposta a novo meio, desde que passa a ser banhada por conteúdo intestinal de diferentes composições.

Na reconstrução a BII o refluxo bílio-pancreático ao coto gástrico é sem dúvida mais evidente que na reconstrução a BI. E na reconstrução a Y de ROUX, este refluxo

praticamente inexistente. Tem sido demonstrado experimentalmente que o refluxo de conteúdo duodenal para o interior do estômago leva ao aparecimento de gastrite crônica e metaplasia intestinal (LAWSON, 1965; NICHOLLS, 1979; KONDO et al., 1984).

LUNDEGARDH et al. (1988) em sua revisão de 6459 doentes gastrectomizados concluíram que o risco de ocorrência do câncer do coto gástrico nos doentes operados a BI não é maior do que o do estômago não operado. Porém, nos operados a BII, após 20 anos de pós-operatório a incidência ultrapassa a do câncer do estômago não operado. POINTNER et al., (1989) enfatizam que a incidência elevada de carcinoma de coto gástrico após a gastrectomia a BII é devido ao fato de que, antes de 1960 esta foi a técnica mais comumente utilizada pelos cirurgiões. Após 1960, a reconstrução a BI passou a ser muito utilizada e portanto, as estatísticas mostram elevação da frequência de carcinomas após gastrectomias a BI (POINTNER et al., 1987).

Não foi encontrado na literatura consultada referência de carcinoma após reconstrução a Y de ROUX para tratar doença benigna.

RAUWERDA & DEN OTTER (1980) afirmaram que "há algumas evidências que o carcinoma do coto gástrico é uma doença iatrogênica induzida pelo refluxo biliar, hipoacidez e anastomosite". Além disso, enfatizam que quando a gastrectomia é necessária para tratar doença péptica benigna, o tipo de reconstrução preferida deve ser a BI, gastrectomia a BII com enteroanastomose latero-lateral (anastomose a BRAUN), ou a Y de ROUX, as quais não levam ao refluxo do conteúdo intestinal para o estômago remanescente.

Não há relatos na literatura de ocorrência de carcinoma após a vagotomia gástrica proximal (VGP) e os autores afirmam que teoricamente não deve tal fato ocorrer (KEIGHLEY et al., 1984; CAYGILL et al., 1986; CARTER, 1987).

DOCOBO DURANTEZ et al. (1990) relatam que ao avaliarem clinicamente, radiologicamente e endoscópicamente 149 doentes submetidos a VGP após 14 anos,

não encontraram nenhum caso de carcinoma ou de lesão pré-maligna. Porém, ROSS et al., (1982) afirmam que substituindo a gastrectomia por cirurgias mais conservadoras e fisiológicas como é a VGP, poderá não haver melhora na expectativa de vida, uma vez que 80% dos ulcerosos são fumantes inveterados e ingerem bebida alcoólica em quantidade razoável.

Experimentalmente, a maioria dos trabalhos que estudaram a carcinogênese do coto gástrico referem-se a reconstrução a BII (RUMPF et al., 1978; SALMON et al., 1982; KONDO et al., 1984; NISHIDOI et al., 1984; HOUGHTON et al., 1987; MASON et al., 1988; DITTRICH et al., 1988; KOBAYASI, 1990).

Além disso, os trabalhos experimentais que compararam a frequência do carcinoma do coto gástrico nas reconstruções BI e BII, relatam maior incidência na BII (MEISTER et al., 1981; LANGHANS et al., 1981).

Concluindo, as evidências clínicas e experimentais são de que o câncer do coto gástrico incide mais em gastrectomizados a BII. Tendo em vista que, desde na última década a gastrectomia a BI seguido de vagotomia troncular foi mais empregada para tratar úlcera péptica, nos próximos anos a afirmação do parágrafo anterior deverá ser mais uma vez confirmada ou totalmente desmentida, através de estudos prospectivos ou retrospectivos.

V.4. VAGOTOMIA e CÂNCER do COTO GÁSTRICO

A gastrectomia realizada para tratar úlcera duodenal é acompanhada de vagotomia troncular ou mesmo seletiva, levando a hipocloridria importante no estômago remanescente. A realização da vagotomia pressupõe redução de 50% a 70% ou mais da produção máxima de ácido no estômago operado. A hipocloridria, como já foi mencionado previamente, é fator que altera a população de bactérias no estômago, elevando o número de bactérias redutoras de nitratos, propiciando a formação dos

chamados compostos N-nitrosos.

TOTTEN et al., (1983) mostraram em sua revisão que o intervalo entre o tratamento cirúrgico da úlcera duodenal associada a vagotomia e o diagnóstico do subsequente carcinoma no coto remanescente é significativamente mais curto, em comparação ao grupo de doentes em que gastrectomia foi realizada sem vagotomia. Esta observação já havia sido anteriormente verificada por CAPPER & DAINTREE JOHNSON (1964), GRAHAME (1965) e NICHOLLS (1979).

Quanto a outras técnicas utilizadas para tratamento da doença ulcerosa, até o presente momento, não há dados suficientes de que a vagotomia sozinha ou a vagotomia troncular associada a piloroplastia (VT + P) predispõe ao carcinoma gástrico e poucos casos relacionados têm sido descritos na literatura. CAYGILL et al., (1986) mostraram que os doentes submetidos a VT + P, apresentaram risco 7 a 8 vezes maior de câncer gástrico, após 20 anos pós-operatório.

Experimentalmente, VILCHEZ et al. (1964) demonstraram que o carcinoma gástrico que se desenvolve após vagotomia em animais, tem características histológicas semelhantes às do carcinoma gástrico difuso do homem.

MORGENSTERN (1968) demonstrou que a vagotomia é um "co-carcinógeno" no desenvolvimento do câncer do coto gástrico. Ao associar a vagotomia troncular à gastroenteroanastomose, verificou que ocorreu incidência 1,7 vezes mais de carcinomas nos animais.

MEISTER et al. (1981) estudando grupos de ratos gastrectomizados a BI, a BII e a Y de ROUX com ou sem vagotomia tratados com MNNG, demonstraram que nos animais vagotomizados as alterações celulares foram mais significantes e a ocorrência de carcinomas foi mais elevada e mais precoce. Comparando os grupos de procedimentos, as alterações celulares foram menos pronunciadas nos animais com reconstrução a Y de ROUX.

MASON & FILIPE (1990), por outro lado, estudando a importância do refluxo do conteúdo intestinal na etiologia do carcinoma do coto gástrico em ratos WISTAR, concluíram que a associação de vagotomia troncular à gastrojejunoanastomose não influenciou a incidência de mudanças malignas.

YAMAFUJI (1991) estudou a susceptibilidade de estômagos vagotomizados em ratos WISTAR que receberam MNNG, submetidos a vagotomia seletiva (VS), vagotomia gástrica proximal (VGP) e antrectomia com reconstrução a BI. Concluíram que a susceptibilidade ao aparecimento de lesões malignas foi significativamente elevada nos animais submetidos a VS, porém não elevada nos submetidos a VGP e antrectomia.

DITTRICH et al. (1988) foram os únicos autores que estudaram a relação entre vagotomia e ingestão de nitratos, submetendo um grupo de 14 ratos a VT + P. Verificaram em um animal (7,1%) a hiperplasia glandular cística e em quatro animais (28,5%) a ocorrência de carcinoma, em contraste ao grupo controle de 16 animais em que não foram registradas nenhuma destas alterações na mucosa gástrica.

Baseadas nestas informações e na tentativa de promover modelos experimentais que se assemelhassem à gastrectomia para tratar úlcera duodenal, foi que a vagotomia troncular foi empregada em todos os grupos nesta pesquisa. Naturalmente que, para concluir sobre os efeitos específicos da vagotomia troncular no aparecimento do carcinoma, deveriam ter sido estudados grupos controles de animais sem a vagotomia.

V.5. A CARCINOGENESE GÁSTRICA EXPERIMENTAL e suas DIFICULDADES

A maioria dos estudos de carcinogênese gástrica foram realizados a partir da década de 70 e o animal de experimentação 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 indução de câncer no estômago de ratos não foi tarefa fácil e os primeiros trabalhos desenvolvidos foram de SUGIMURA & FUJIMURA (1967) e SAITO et al. (1970).

A ocorrência de carcinoma espontâneo no estômago do rato é raro. BULLOCK & CURTIS (1930) relatam a ocorrência de um carcinoma e nove sarcomas gástricos entre 33.000 ratos. MAEKAWA et al. (1982) não observaram nenhum tumor gástrico espontâneo em 593 ratos FISCHER 344. Em relação aos ratos WISTAR que empregamos nesta pesquisa, não foi encontrado referência quanto à ocorrência de carcinoma gástrico espontâneo (WEISBURGER et al., 1980).

Quanto à sensibilidade das diversas linhagens de ratos à carcinogênese, a linhagem WISTAR apresenta sensibilidade intermediária entre a linhagem ACI que é extremamente sensível e a BUFFALO que é resistente (OHGARKI et al., 1983; KOBAYASI, 1990).

A utilização de modelos experimentais para estudos de etiopatogenia do câncer do coto gástrico 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 éter utilizado como anestésico, de modo que o pesquisador deve executar o procedimento proposto no tempo mais curto possível, caso contrário o animal não sobreviverá.

O tempo em que o animal permanece em observação deve ser longo para que se obtenha os resultados desejados e estes animais têm vida muito curta, ou seja, com frequência 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. Por outro lado, os vários meses em que os animais permanecem em observação ou tratamento, tornam as pesquisas demoradas.

Os carcinógenos são mais comumente administrados por via oral, embora possam ser empregados também por via sistêmica, subcutânea ou cutânea. Na maioria das vezes, é dado ao animal juntamente 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 o período de estudo e, além disso, no seu 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 com drogas em animais de laboratório dependem do tempo de tratamento e das quantidades e concentrações das drogas ministradas. Assim, estes valores devem ser minuciosamente monitorizados para cada animal ou grupo de animais ao longo do estudo e como são estudos de longa duração, normalmente não são simples nem fáceis estes controles. Naturalmente que, nas comparações dos resultados entre as várias pesquisas similares para obtenção de conclusões, estes fatores devem ser considerados.

Em virtude dos ratos da linhagem WISTAR terem sido utilizados pela maioria dos pesquisadores que estudam a carcinogênese do coto gástrico (SALMON et al., 1982 e 1985; KONDO et al., 1984; NISHIDOI et al., 1984; HOUGHTON et al., 1987; MASON et al., 1988) é que foi optado por utilizá-los nesta pesquisa.

V.6. A CARCINOGENESE EXPERIMENTAL DO COTO GÁSTRICO

Já citamos na Introdução que são poucos os trabalhos experimentais sobre carcinogênese do coto gástrico. Alguns autores empregaram o MNNG para sua indução experimental (DAHM & WERNER, 1973; RUMPF et al., 1978; SHAKE & NOMURA, 1979; MEISTER et al., 1981; NISHIDOI et al., 1984; KONDO et al., 1984; SALMON et al., 1985; HOUGHTON et al., 1987). Porém, outros autores apenas submeteram os animais a gastrectomia e os observaram durante alguns meses. Assim, LANGHANS et al. (1981), após a gastrectomia e realização de 5 tipos de reconstruções verificaram que a ocorrência de câncer foi respectivamente: 10% na gastrectomia a BI, 23,1% na gastroenteroanastomose a BRAUN, 30% na gastrectomia a BII e 70,8% na gastroenteroanastomose simples. Na gastrectomia a Y de ROUX não foi encontrado nenhum animal com câncer. Outras possíveis alterações celulares da mucosa não são mencionadas pelos autores na pesquisa.

MASON et al. (1988) após diversos tipos de procedimentos e observação dos animais durante 9 meses verificaram que o carcinoma não foi detectado em nenhum animal do grupo controle (11 animais) não operado. Nos animais submetidos a gastrectomia Y de ROUX, apenas 1 animal (8%) desenvolveu câncer. Em contraste, 7 dos 12 animais submetidos a gastrectomia BII desenvolveram alterações celulares catalogadas como câncer, e 10 dos 14 animais com gastrectomia a BII e refluxo pancreático apenas desenvolveram alterações semelhantes. Porém, nenhum dos animais com gastrectomia a BII e apenas refluxo biliar apresentou tais alterações. Diante destes resultados, concluem que o refluxo duodenogástrico é um importante fator no desenvolvimento de câncer no estômago operado, e que o componente pancreaticoduodenal isoladamente é mais importante neste processo que a bile. Da

mesma forma que os autores anteriores, estes também não se preocuparam em descrever as demais alterações celulares no estômago operado.

MASON & FILIPE (1990) enfatizam que as pesquisas experimentais de câncer do coto gástrico realizadas em ratos provém modelos experimentais muito úteis para investigar as possíveis etiologias deste câncer no homem.

KOBAYASI (1990), no Brasil, através de estudos anatomopatológico, histoquímico e imunohistoquímico da mucosa do estômago nos animais operados a BII e Y de ROUX, identificou 3 tipos de proliferação celular: hiperplasia, hiperplasia adenomatosa e adenocarcinoma. Seus resultados mostram que tanto na gastrectomia a BII, como nos grupos em que foi realizada a transformação de BII em Y de ROUX (24 e 36 semanas), foram registrados a ocorrência de adenocarcinoma em 9 animais (3%). Nos animais submetidos a gastrectomia a Y de ROUX desde o início, não foi diagnosticado nenhum caso de carcinoma.

Especificamente utilizando nitritos e nitratos para carcinogênese no estômago operado, foi encontrada apenas a pesquisa realizada por DITTRICH et al., (1988). Estes autores utilizaram a dosagem de 200 mg/litro de solução, sendo que cada animal ingeriu aproximadamente 41 ml/dia. Verificaram que 10 dentre os 13 animais submetidos a gastroenteroanastomose desenvolveram carcinomas gástricos, enquanto nenhum animal do grupo controle (16 animais) apresentou tumores.

A ocorrência de carcinomas na pesquisa destes autores foi bem maior do que a registrada no presente trabalho. A explicação para esta diferença pode estar na maior susceptibilidade dos animais que utilizaram, que não foram da raça WISTAR. Concluem os mesmos autores que, "a alta incidência de tumores em ratos operados, inclusive naqueles que não receberam aditivos, fala a favor de que as alterações diretas ou indiretas relacionadas com a própria cirurgia (inclusive uma possível formação endógena de nitratos) são tão importantes quanto o efeito dos nitratos exógenos".

Na presente pesquisa os nitritos e nitratos foram utilizados na concentração de 30 mg/kg de peso por dia de cada produto. Considerando que os animais ingeriram ao mesmo tempo ambos os produtos, pode-se considerar portanto que ingeriram 60 mg/kg de peso por dia, sendo que, ao ser considerado a concentração por litro de solução aquosa, cada animal ingeriu aproximadamente 450 mg/litro de solução por dia. A opção por estes valores foi baseada nos autores que empregaram experimentalmente nitritos e nitratos (ENDO & TAKAHASHI, 1973a, 1973b, 1973c; MIRVISH et al., 1980; CAZOTTES et al., 1981; MAEKAWA et al., 1982; LIJINKY, 1984). Nas tabelas 03, 04 e 05 são mostradas as quantidades médias diárias de solução ingeridas por cada animal.

Embora não fosse o objetivo principal desta pesquisa, ao analisar a evolução do peso dos animais estudados (tabela 02), foi verificado que todos tiveram ganho de peso, uma vez que eram jovens no início da pesquisa.

Os animais submetidos a gastrectomia a BII e a Y de ROUX tiveram ganho de peso superior ao final da pesquisa, quando ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso, porém, valores estes inferiores quando comparados aos animais submetidos a gastrotomia, que ingeriram as mesmas soluções. Os menores ganhos de peso ocorreram nos animais submetidos a gastroenteroanastomose e que ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso, justamente nos grupos registrados mais carcinomas.

HOUGHTON et al. (1987) também referem em sua casuística que os animais submetidos a gastrectomia a BII e a Y de ROUX apresentaram menor ganho de peso que os controles. Neste particular, lembrar que no homem tal fato também é registrado, ou seja, após a gastrectomia ocorre perda de peso, como já enfatizaram outros autores (DE VRIES et., 1983; DONAHUE et al. 1984; FREIRE et al., 1991).

A utilização de derivados guanidínicos associados a nitritos e nitratos, ou seja, formação de compostos N-nitrosos *in vitro* para indução de carcinogênese gástrica experimental, já fora anteriormente utilizada por MIRVISH et al. (1980), que

empregaram a N-Nitroso-L-Prolina. E foi baseado nestas observações e nas conclusões de ENDO & TAKAHASHI., (1973a, 1973b, 1973c), ENDO et al., (1974), MIRVISH et al. (1973) e BULAY et al.(1979) que foi escolhido utilizar a N-Benzoyl-L-argininamida (BAA) associada a nitritos e nitratos em meio ácido como composto carcinogênico.

A BAA é droga muito estável e de fácil obtenção e derivada do aminoácido arginina, sendo que ambos têm o grupamento guanidina em suas moléculas. Ambos são estruturalmente semelhantes à N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidina (MNNG), o qual, como já citado anteriormente é capaz de induzir carcinomas em alta frequência no estômago de roedores. Portanto, é razoável esperar atividades mutagênicas e carcinogênicas nos derivados nitrosados da arginina (ENDO & TAKAHASHI, 1973a).

Embora a presente pesquisa tenha sido baseada tanto nas formulações, como nas quantificações das drogas preconizadas por estes autores anteriormente citados, crítica deve ser feita ao fato de não se dispor de meios para identificar o composto carcinogênico resultante da mistura destas drogas, nem de assegurar a sua real carcinogenicidade. O ideal teria sido primeiramente testar *in vitro* a capacidade carcinogênica da referida mistura de drogas, como fizeram ENDO & TAKAHASHI (1973a e 1973b), para em seguida empregá-la nos animais operados.

V.7. ATIVIDADE BIOLÓGICA dos COMPOSTOS N-NITROSOS

Os compostos N-nitrosos produzem vários efeitos biológicos adversos aos animais e ao homem. Dentre estes efeitos está o desenvolvimento de tumores.

As nitrosaminas e as nitrosamidas estão entre as substâncias consideradas compostos N-nitrosos, entretanto têm atividade biológicas diferentes. Embora ambas sejam carcinogênicas, as nitrosaminas não são intrinsecamente ativas e devem ser primeiro ativadas através de enzimas pelos organismos. Portanto, bactérias que não

possuem enzimas ativadoras não sofrem mutações na presença de nitrosaminas. As nitrosaminas produzem tumores geralmente distantes dos locais de aplicação.

As nitrosamidas, por outro lado, têm sua atividade biológica associada à sua estrutura química, agindo especialmente em pH alcalino. Portanto, são diretamente mutagênicas e desenvolvem tumores principalmente nos locais de aplicação (HOTCHKISS, 1987).

Os compostos N-nitrosos promovem o desenvolvimento de carcinomas mediante mutação celular. Tanto os derivados das nitrosaminas, como as nitrosamidas 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 (BARTSCH & MONTESANO, 1984; LJINSKY, 1987).

Além disso, seguindo as hipóteses e conclusões de MOOLGAVKAR & KNUDSON (1981) em seu modelo experimental de carcinogênese, o estômago com gastrite crônica seria mais suscetível às nitrosamidas, facilitando a ação carcinogênica direta na mucosa doente, para o desenvolvimento de células mutantes iniciais. O crescimento seletivo destas células produziria o câncer (MIRVISH, 1983).

No caso específico da gastrectomia, tanto é comum a ocorrência de gastrite crônica ou de outros achados como a metaplasia intestinal na mucosa remanescente, bem como o pH é alcalino, fatores portanto propícios à formação de compostos N-nitrosos à partir de nitritos e nitratos e à sua ação carcinogênica (MIRVISH, 1983; BARTSCH & MONTESANO, 1984).

A vitamina C é uma das poucas substâncias já conhecidas capaz de inibir o processo químico de carcinogênese causado pelos compostos N-nitrosos, tanto experimentalmente, quanto no homem. Em animais a vitamina C empregada na forma de ascorbato inibe a formação intragástrica de nitrosaminas a partir dos nitritos e no homem a nitrosação *in vivo* é inibida pela ingestão de ácido ascórbico (HOWSON et

al., 1986).

DITTRICH et al. (1988) em seu modelo experimental de carcinogênese utilizando *nitritos e nitratos*, empregou a vitamina C na forma de ácido ascórbico na água ingerida pelos animais e verificaram que a ocorrência de tumores foi significativamente *menor* em comparação aos demais grupos.

Recentemente, além das implicações dos compostos N-nitrosos na etiopatogenia do carcinoma gástrico e coto gástrico, tem sido pesquisado e discutido a associação do *Helicobacter pylori* na provável origem do câncer gástrico.

PARSONNET et al. (1991) conseguiram demonstrar a presença do *Helicobacter pylori* em cerca de 89,2% dos portadores de câncer gástrico do tipo intestinal. Enfatizam que a infecção causada pelo microorganismo resultaria em rápido *turnover* celular, o qual por sua vez eleva o risco de mutações. E segundo estes autores, a inflamação prolongada leva à formação de substâncias tais como radicais livres que são mutagênicas. Além disso, a própria inflamação prolongada da mucosa pode impedir a capacidade natural do organismo humano em reparar as cadeias de DNA danificadas por substâncias carcinogênicas.

CORREA (1991), discutindo a etiopatogenia do câncer gástrico, coloca a hipótese atual da presença de três fatores dominantes: infecção por *Helicobacter pylori*, ingestão excessiva de alimentos em conservas e salgados e dieta pobre em frutas frescas e vegetais.

JIANG et al. (1987) verificando a ocorrência do *Helicobacter pylori* em portadores de dispepsia e variados graus de gastrites, registraram a ocorrência do microorganismos na mucosa de 80% dos portadores de gastrectomia a BII. Entretanto, PRZYKLENK et al. (1990) avaliando a participação deste microorganismo em portadores de diferentes problemas gástricos, através da dosagem de anticorpos IgG, concluíram que o mesmo não pode ser considerado fator etiológico para as alterações encontradas na mucosa do coto gástrico.

Mais estudos serão necessários em portadores de câncer do coto gástrico para estabelecer ou excluir alguma associação causal entre a etiopatogenia do carcinoma e a presença deste microorganismo.

V.8. AS ALTERAÇÕES HISTOPATOLÓGICAS NO COTO GÁSTRICO

As alterações histopatológicas encontradas no coto gástrico remanescente após gastrectomia a BI ou a BII, têm sido objeto de estudos detalhados, tanto clínicos como experimentais.

O principal corante utilizado pelos autores nestes estudos também tem sido a hematoxilina e eosina, suficientes portanto para demonstrar as transformações sofridas pela mucosa.

A tabela 18 resume algumas das publicações na literatura consultada, às quais serão analisadas com mais detalhes a seguir, e pode-se notar que são as mesmas que foram registradas em pesquisas experimentais.

	Nº	t.	Nl.	G.C.	Mt.	H.G.C.	D.	Ca.
	(anos)		%	%	%	%	%	%
DOMELLOF (1976) - BI	70	32	4,3	95,7	40	38,6	-	5,7
DOMELLOF (1977) - BII	188	20	-	97	33,2	69,8	-	5,8
SCHRUMPF (1977) - BII	108	20	0,9	11,1	22,2	-	62	3,7
GEBOES (1980) - BII	56	17	-	89,8	39,5	55,2	31,2	8,9
STOKKELAND (1981)	BII 108	20	0,9	11,1	22,2	-	13,8	3,2
WATT (1984a) - BI	3	10	-	33,3	33,3	-	33,3	-
	BII 19	10	-	42,1	31,5	-	21	5,2
OVASKA (*) (1986b)	BII 225	31	17	7	37	-	-	-

(*) Gastrectomia a BII com entero-enteroanastomose a BRAUN

Tabela 18 - Mostra as alterações histológicas da mucosa gástrica ao nível da anastomose de doentes submetidos a gastrectomia BI ou BII (Nº - número de doentes; t. - tempo de cirurgia em anos; Nl. - mucosa normal; G.C. - gastrite crônica; Mt. - metaplasia intestinal; H.G.C. - hiperplasia glandular cística; D. - Displasia; Ca. - carcinoma)

MORGENSTERN et al. (1973), em minucioso estudo histopatológico de 22 doentes com gastrectomia a BI, a BII, gastroenteronastomose e doentes portadores de carcinoma do coto gástrico, referem que a mucosa não neoplásica próxima ao tumor e perianastomótica apresentavam gastrite atrófica, metaplasia intestinal e hiperplasia cística de glândulas gástricas. SIURALA et al. (1974) ao realizar seguimento de doentes portadores de gastrite atrófica, registraram transformações da mucosa para hiperplasias glandulares e displasia. DOMELLOF et al. (1976 e 1977), respectivamente realizando estudos minuciosos da mucosa do estômago remanescente de doentes com gastrectomia a BI e a BII e GEBOES et al. (1980) estudando doentes com gastrectomia

a BII mostram com muita clareza as mesmas alterações.

SCHRUMPF et al. (1977) e STOKKELAND et al. (1981) estudando doentes após gastrectomia BII, não referem a ocorrência da hiperplasia glandular cística, porém estes últimos autores e GEBOES et al. (1980) demonstraram que a metaplasia intestinal é achado frequente no estômago operado. MORSON (1955) já havia apresentado evidências de que 33% entre 107 cânceres gástricos primários originavam-se de epitélio intestinalizado. NAGAYO et al. (1965) e CORREA et al. (1970), também mostraram evidências adicionais de transição entre metaplasia intestinal e o câncer gástrico tipo intestinal classificado por LAUREN (1965). KORN (1974) enfatizava que a frequência da metaplasia intestinal nas lesões gástricas benignas era muito menor que no carcinoma, e mostrou que 60 a 100% dos pacientes com carcinoma gástrico tinham associação com intestinalização do epitélio. SCHANAPKA et al. (1984) e LYGIDAKIS (1986) descreveram ocorrência elevada de metaplasias intestinais e hiperplasias glandulares císticas após gastrectomia a BII e GRAEM et al. (1984) deram muita ênfase a questão da displasia em vários graus na mucosa gástrica após a gastrectomia a BII.

OFFERHAUS et al. (1989) revisaram 504 doentes gastrectomizados assintomáticos e verificaram além da presença da *displasia*, a combinação de *gastrite atrófica*, *metaplasia intestinal* e *dilatação cística* em biópsias de um único doente.

GRAEM et al. (1984), conseguiram demonstrar intensas alterações displásicas em doentes ressecados a BII após 27 a 35 anos de pós-operatório. SCHRUMPF et al. (1977), GEBOES et al. (1980), STOKKELAND et al. (1981) e WATT et al. (1984a) também referem a ocorrência de displasias em diferentes frequências.

Na Introdução desta pesquisa mencionamos os autores que testaram os efeitos carcinogênicos de nitritos e nitratos em ratos não gastrectomizados durante longos períodos de administração. As concentrações dos produtos utilizadas, bem como a raça de animais variaram de um a outro pesquisador. Na tabela 19 a seguir são

mostradas estas concentrações, para que sirvam de comparação e obtenção de conclusões.

Autores	Seguimento	Nº de animais	Concen- tração	Frequência de câncer
INAI e cols. (1979)	7,5 meses	100 camundongos	21mg/kg (nitritos)	-
MIRVISH e cols. (1980)	12 meses	50 WISTAR	63mg/kg (nitritos)	18% de papilomas
MAEKAWA e cols. (1982)	24 meses	100 F-344	250mg/kg (nitritos)	2% de papilomas
idem	idem	idem	3,94kg/kg(*) (nitratos)	-
LIJINSKY (1984)	23 meses	48 F-344	200mg/kg (nitritos)	2%
Esta Pesquisa (1993)	8 meses	27(**) WISTAR	450mg/kg (nitrito+ nitrato)	-

(*) - Os nitratos foram administrados com a ração;

(**) - Grupo controle.

Tabela 19 - Mostra as publicações referentes a emprego de nitritos e nitratos em animais não gastrectomizados, com os respectivos tempo de seguimento número e raça, concentrações e frequência de tumores gástricos encontrados.

Assim, com exceção de MIRVISH et al., (1980) que registraram 18% de papilomas, todos os demais não encontraram tumores ou, verificaram frequências pequenas. Portanto, embora haja indícios de que nitritos e nitratos possam ser carcinogênicos para o estômago de ratos normais não gastrectomizados, mais

pesquisas são necessárias para confirmar esta hipótese.

CAZOTTES et al., (1981) administraram nitritos e nitratos a ratos SPRAGUE-DAWLEY e concluíram, através de estudos toxicológicos e histológicos, que em altas doses estes compostos induziram perda de peso, involução dos parâmetros nutricionais e significativa diminuição do hematócrito e hemoglobina. Além disso, verificaram que o DL50 para os nitritos foi entre 49 a 60 mg/kg e para os nitratos de 2,359 kg/kg.

Dentre os trabalhos em animais de laboratório em que os autores realizaram gastrectomias em ratos, como modelos experimentais para refluxo enterogástrico e estudos da carcinogênese do coto gástrico remanescente, os achados histopatológicos também se repetem e os autores enfatizam que são evidentes ao nível da anastomose gastrojejunal.

Assim, MEISTER et al. (1981), em seus modelos experimentais, com o sem vagotomia, referem que as primeiras alterações de mucosa registradas antes do aparecimento do carcinoma são " formação de lesões císticas glandulares, que lembram perfeitamente os cistos glandulares no homem". Posteriormente, foi verificado "incidência elevada de glândulas dilatadas, às quais se espalham além da *muscularis mucosa* no interior da submucosa".

KONDO et al. (1984) em seu modelo experimental de refluxo enterogástrico, com duas anastomoses gastrojejunais, estudando apenas 13 animais, relatam presença de 23% de metaplasia intestinal, 92% de hiperplasia glandular e 23% de adenocarcinomas.

MASON et al. (1988) investigaram a importância do refluxo duodenogástrico na gênese do carcinoma do coto gástrico em 62 ratos WISTAR, após 8 meses de observação. Referem que nenhum carcinoma foi registrado nos animais com refluxo de bile somente, entretanto, foi detectado 10 carcinomas entre os 14 animais com refluxo de secreções pancreatoduodenal (71%). Nos animais com refluxo combinado, a ocorrência de carcinoma foi de 58%. Concluem em sua pesquisa que o componente

pancreatoduodenal é um importante fator na etiopatogenia do carcinoma do coto gástrico.

DITTRICH et al. (1988), estudando dois grupos de animais, em que realizaram gastrojejunoanastomose e vagotomia troncular e piloroplastia, com respectivamente 13 e 14 animais, ao submetê-los à ingestão prolongada de nitratos registraram tanto a presença de carcinomas como de hiperplasia glandular. No grupo submetido a gastrojejunoanastomose verificaram que 10 animais desenvolveram carcinomas, em 2 hiperplasia glandular e em 1 a mucosa era normal. No segundo grupo verificaram que apenas 4 animais desenvolveram carcinoma, 1 desenvolveu hiperplasia glandular e em 9 a mucosa estava normal.

Quanto às pesquisas experimentais em que os autores submeteram animais simplesmente à ingestão de nitritos e/ou nitratos, sem praticar ressecções ou gastroenteroanastomoses, os achados histopatológicos diferiram.

WEINSBURGER et al. (1980) que submeteram ratos WISTAR à ingestão de extratos do peixe *Sanma*, comumente ingerido pela população no Japão, associados ou não a nitritos, verificaram incidência significativa de metaplasia intestinal, hiperplasia glandular, além de papilomas, adenomas e carcinomas, quando os nitritos estiveram presentes na sua alimentação.

MIRVISH et al. (1980) relatam que a ingestão continuada de nitritos é que promove o desenvolvimento de carcinomas no estômago dos animais, mas não faz referência a outras alterações da mucosa. Por outro lado, INAI et al. (1979) não associam a presença de tumores em ratos com a ingestão de diferentes concentrações de nitritos.

O objetivo do presente trabalho não foi uma análise única de alterações histopatológicas da mucosa do estômago operado, através de outras colorações ou técnicas histoquímicas como alguns autores se preocuparam em fazê-la, tanto é que

somente a hematoxilina e eosina foi empregada, como já enfatizamos anteriormente. Entretanto, não se pode deixar de mencionar algo mais sobre a questão.

Os estudos experimentais em ratos mostrando a associação de metaplasia intestinal com carcinoma iniciaram-se com FEIT et al. em 1967.

KONDO et al. (1984), que também se preocuparam com a questão, apesar de terem encontrado metaplasia intestinal na carcinogênese gástrica experimental em ratos na frequência de 23%, referem que o achado não é frequente.

Nesta pesquisa, a metaplasia intestinal foi registrada em 7,3% dentre o total de ratos estudados e 8,6% afora o grupo controle de gastrostomias. Em números absolutos foi registrada com maior frequência entre os animais que ingeriram água (4 animais - 3,6%)(tabela 11) e nos submetidos a gastrectomia a Y de ROUX (4 animais - 3,6%)(tabela 16).

A hiperplasia do tecido glandular gástrico com formações de aspectos císticos é encontrada em clínica no estômago operado e em modelos experimentais. A hiperplasia glandular cística é definida quando foi encontrado dilatação de duas vezes ou mais das glândulas gástricas, em relação ao seu maior diâmetro (GEBOES et al., 1980). SAITO et al. em 1970, já referiam que a hiperplasia da mucosa gástrica na carcinogênese do estômago não operado pelo MNNG era uma fase evolutiva pregressa ao carcinoma. Outros autores também referiram que as hiperplasias glandulares císticas seriam uma fase precoce da carcinogênese experimental no rato, encontrada inclusive bem próxima ao carcinoma (DAHM & WERNER, 1973; LAWSON, 1965; NAGAYO, 1974).

No estômago operado esta hiperplasia seria estimulada tanto pela secreção bílio-pancreática, como por compostos N-nitrosos formados no local (SCHAKE & NOMURA, 1979; HOUGHTON et al., 1987).

A hiperplasia glandular cística nesta pesquisa foi encontrada em 37% (40 animais)(tabela 11), considerada dentre o total de animais estudados, e 44,4% (36 animais) afora o grupo controle de gastrotomias. Sua frequência foi maior entre os

animais que ingeriram nitrito + nitrato (15 animais - 41,8%)(tabela 09), entretanto sem diferença estatística significativa ($p > 0,05$) em relação às demais soluções. Nos procedimentos realizados, sua frequência foi maior entre os animais submetidos a gastroenteroanastomose (15 animais - 55,6%)(tabela 13) e gastrectomia a BII (13 animais - 48,2%)(tabela 14), justamente os procedimentos que propiciam maior refluxo enterogástrico. Ao se analisar estatisticamente o grupo todo, foi verificado que sua ocorrência foi significativa ($p < 0,05$) entre os animais submetidos tanto a gastrectomia a BII como a Y de ROUX.

Comparações destas frequências com a literatura são difíceis de serem feitas, uma vez que os autores definem como hiperplasias atípicas, prováveis achados que preferimos denominar de displasias.

O diagnóstico das displasias neste trabalho, embora obedecessem a classificação proposta por GRUNDMANN (1975), OEHLERT (1975) e NAGAYO (1974), basicamente associada a alterações celulares, tais como núcleos hipercondensados e alargados, mitoses presentes e outras anormalidades arquiteturais caracterizando atipias, não se estendeu a ponto de classificá-las em graus leve, moderada ou grave. As displasias de modo geral são aceitas atualmente como lesões pré-malignas.

KONDO et al. (1984), DITTRICH et al. (1988) e TATEMATSU et al. (1989, 1990) e KOBAYASI (1990) ao invés de displasias, preferiram a denominação hiperplasias atípicas. TATEMATSU et al. (1989,1990) e KOBAYASI (1990) empregaram técnicas histoquímicas para diferenciar os vários tipos de hiperplasias.

A frequência das displasias nesta pesquisa totalizou 15,7% (17 animais)(tabela 16) em relação à todos os animais estudados e 18,5%, afora o grupo controle de gastrotomias. Foi significativamente mais elevada ($p < 0,05$) entre os animais que ingeriram nitrito + nitrato e composto N-nitroso, ocorrendo em 16 animais dentre o total de 17 que apresentaram este achado histopatológico (tabela 11).

Quanto ao carcinoma no coto gástrico, várias questões e aspectos podem ser

discutidos.

Nesta pesquisa, o carcinoma foi registrado em 6 casos (5,5%)(tabela 16), considerando o total de 108 animais estudados. Afora o grupo controle, esta porcentagem chega a 7,4% e considerando apenas os animais ressecados a BII e os submetidos a gastroenteroanastomose, são 7,4% e 11,1%, respectivamente.

Todos os carcinomas registrados foram nos animais que ingeriram nitrito + nitrato ou composto N-nitroso, não ocorrendo nenhuma neoplasia nos animais que ingeriram apenas água ou que foram submetidos a gastrotomia.

Os números são pequenos e dificultam a análise estatística. Porém, metade dos animais com carcinoma (3 animais) foram os submetidos a gastroenteroanastomose (tabela 13), justamente o procedimento que mais propicia refluxo enterogástrico. Do mesmo modo, dois terços dos animais com carcinoma (4 animais) foram os que ingeriram composto N-nitroso (tabela 11).

Foi registrado a ocorrência de carcinoma em apenas um animal (3,7%) submetido a gastrectomia a Y de ROUX, fato também registrado por MASON et al. (1988) em um animal (8%) de sua casuística. Estes autores utilizaram 10 cm de distância entre as anastomoses gastrojejunal e jejuno-jejunal, como foi feito nesta pesquisa.

Na análise estatística feita por grupos de animais e grupos de alterações histopatológicas, comparando NI./G.C./Met. com H.G.C./Disp./Ca. foi verificado que estas últimas alterações foram significativas ($p < 0,05$) naqueles que ingeriram nitrito + nitrato (24 animais - 33,3%) e composto N-nitroso (26 animais - 36,1%), comparados aos que ingeriram água (13 animais - 16,4%).

Da mesma forma, ao se fazer a mesma comparação entre os procedimentos, foi verificado que as alterações H.G.C./Disp./Ca. foram significativas ($p < 0,05$) entre os animais submetidos a gastroenteroanastomose (24 animais - 29,6%), gastrectomia a BII

(18 animais - 22,2%) e gastrectomia a Y de ROUX) (15 animais - 18,5%), comparados ao grupo controle de gastrotomias (6 animais - 7,4%).

Ao serem comparados apenas os achados histopatológicos de Disp./Ca nos animais submetidos a gastroenteroanastomose, gastrectomia a BII e gastrectomia a Y de ROUX, a diferença em relação ao grupo controle de gastrotomias foi significativa a nível de 6% ($p < 0,06$).

Fazendo um paralelo entre os grupos de alterações histopatológicas secundárias à ingestão de nitrito + nitrato e composto N-nitroso e aos procedimentos de gastroenteroanastomose, gastrectomia a BII e a Y de ROUX, conforme colocados na tabela 17, pode-se concluir que não ocorreu diferença significativa ($p > 0,05$), embora os grupos comparados tenham número diferentes de animais.

DITTRICH et al. (1988) referem a ocorrência de 10 carcinomas entre os 13 animais submetidos a gastroenteroanastomose, totalizando a porcentagem de 76,9%.

Assim, comparativamente foi registrado neste trabalho baixa ocorrência de carcinomas e esta diferença poderia ser explicada pela maior susceptibilidade dos animais utilizados por aqueles autores, como já enfatizamos anteriormente. Por outro lado, DITTRICH et al. (1988) consideraram somente as hiperplasias glandulares, que totalizaram 2 animais entre os 13 ressecados a BII (15,3%) e não diferenciaram as displasias, que nesta pesquisa totalizaram 20,5%, não incluindo o grupo controle de gastrotomias.

Analisando mais detalhadamente a literatura sobre a questão, outra provável explicação para as diferentes porcentagens de carcinoma encontradas, seria pelo fato de que os critérios histológicos utilizados no diagnóstico do câncer de coto gástrico em animais diferem entre os autores (SCHAKE & NOMURA, 1979; LANGHANS et al., 1981; KONDO et al., 1984; NISHIDOI et al., 1984; KOBAYASI, 1990), e portanto podem ter sido superestimados por alguns. O tempo de observação dos animais é outro fator que merece ser levado em consideração.

NISHIDOI et al., (1984) e KONDO et al., (1984) que também utilizaram o MNNG para indução de neoplasias em ratos, basearam-se no critério de proliferação glandular com ou sem atipias celulares, invadindo a submucosa ou a camada muscular e até a serosa, para caracterizar os carcinomas. LANGHANS et al. (1981) não definiram seus critérios e MASON et al., (1988) utilizam o critério de invasão intramural, invasão de órgãos adjacentes e de linfonodos para caracterizar o carcinoma.

Deste modo, se tivesse sido levado em consideração o critério de NISHIDOI et al. (1984) e KONDO et al. (1984) nesta pesquisa experimental, muitas das hiperplasias glandulares e algumas das displasias teriam sido consideradas como carcinomas, pois se proliferam na submucosa.

Na tabela 20 a seguir, pode-se notar que as frequências de câncer referidas por estes autores, após gastrectomia a BII, sem utilização de substâncias carcinogênicas, diferem significativamente.

	<i>Seguimento</i>	<i>nº de ratos operados</i>	<i>Frequência de câncer</i>
<i>LANGHANS e cols.</i>			
<i>(1981)</i>	<i>14 meses</i>	<i>20</i>	<i>6 (30%)</i>
<i>KONDO e cols.</i>			
<i>(1984)</i>	<i>10 meses</i>	<i>13</i>	<i>3 (23%)</i>
<i>MASON e cols.</i>			
<i>(1988)</i>	<i>9 meses</i>	<i>40</i>	<i>17 (42%)</i>
<i>KOBAYASI (1991)</i>	<i>14 meses</i>	<i>80</i>	<i>6 (7,5%)</i>

Tabela 20 - Incidência de carcinoma de coto gástrico em ratos submetidos a gastrectomia a BII.

Os resultados desta pesquisa, quanto à ocorrência de carcinomas, se aproximam aos de KOBAYASI (1990), que não associou a vagotomia troncular e também utilizou ratos da raça WISTAR.

No homem alguma controvérsia também existe. Assim, os adenocarcinomas bem diferenciados tem sido sugeridos que se desenvolvem de mucosa gástrica metaplásica (MORSON, 1955; LAUREN, 1965; MING et al., 1967), enquanto os adenocarcinomas indiferenciados se desenvolvem da mucosa gástrica normal (NAKAMURA et al., 1968; NAGAYO, 1975; NAKAHARA, 1978).

Na tentativa de elucidar melhor esta questão, experimentalmente TATEMATSU et al. (1989, 1990) estudaram a expressão fenotípica dos tumores gástricos e demonstraram em ratos WISTAR não operados que é bem provável que o

adenocarcinoma induzido por MNNG não se origine da metaplasia intestinal, mas de mucosa glandular normal. Porém, em ratos operados, o único trabalho existente que se preocupou com a questão foi o de KOBAYASI (1990) que identificou que o adenocarcinoma que se manifestou após reconstrução a BII foi a expressão fenotípica das células intestinais, particularmente das células caliciformes.

V.9. COMENTÁRIOS FINAIS

O tratamento cirúrgico da úlcera péptica gastroduodenal tem sofrido modificações e avanços nos últimos 100 anos. A gastrectomia proposta por BILLROTH em 1881 foi o único procedimento utilizado durante muitos anos. Em 1943, DRAGSTEDT & OWENS comunicaram os primeiros casos do emprego da vagotomia bilateral supradiafragmática para tratar úlcera duodenal, embora historicamente JABOULAY já teria realizado a primeira vagotomia no homem em 1900. Por volta de 1948 apareceram as primeiras publicações referentes ao emprego da vagotomia associada a procedimento de drenagem (BURGE, 1978).

GRIFFITH & HARKINS em 1957 descreveram a vagotomia gástrica proximal e somente em 1973 foi que HERRINGTON publica sua experiência com o emprego da gastrectomia seguido da vagotomia troncular e reconstrução a BI ou a BII.

Na década de 70 e 80 inúmeras são as publicações referendando a VGP no tratamento da úlcera duodenal. Apesar disso, durante este século que se passou, com certeza a gastrectomia com ou sem vagotomia objetivando ressecar a úlcera e diminuir ou abolir a produção de ácido no estômago, não deixou de ser utilizada em nenhum momento. Frente às drogas existentes na atualidade para tratar a úlcera péptica, resultantes de intensas e profundas pesquisas realizadas pela indústria farmacêutica e a experiência e conhecimento das vantagens e complicações com o

emprego das várias técnicas para o seu tratamento cirúrgico nas últimas décadas, é lícito discutir qual a melhor opção para beneficiar o doente a curto e a longo prazo.

Desde o início da década de 90 os estudiosos da úlcera péptica concordam de maneira unânime que o número de indicações cirúrgicas eletivas para tratar a doença teve um decréscimo significativo e notório. Os medicamentos disponíveis proporcionam diminuição importante da produção de ácido, ou seja hipocloridria, e por isto levam à cicatrização da úlcera.

Neste momento portanto é plausível também comparar a gastrectomia e a vagotomia gástrica proximal ao tratamento clínico com medicamentos bloqueadores da produção de ácido no que diz respeito à *predisposição* ao aparecimento do câncer gástrico. Como já foi enfatizado anteriormente, autores demonstraram que a gastrectomia sem dúvida tem mostrado *predisposição* bem maior e significativa.

Considerando ainda o tipos de reconstrução a BI ou a BII, foi mostrado que na BII a chance de ocorrência de carcinoma é bem maior. Assim, sempre que possível tecnicamente, convém optar pela reconstrução a BI.

Quanto a utilizar a reconstrução a Y de ROUX, já que oferece mínimas chances de câncer do coto gástrico, não tem aceitação pela maioria dos autores consultados, quanto a ser utilizada de rotina na cirurgia da úlcera péptica. Porém, é opção que merece estudos clínicos mais profundos e minuciosos no futuro.

Em se tratando de cirurgia, restou portanto a vagotomia gástrica proximal, contra a qual até o momento não se demonstrou nenhuma evidência ou pesou qualquer acusação relacionada com o aparecimento de câncer gástrico, além do que oferece baixa mortalidade cirúrgica e incidência mínima de sintomas pós-operatórios. Contra a mesma pesam as alegações de que a taxa de recidiva ulcerosa ultrapassa os 10% após 5 anos. Entretanto, nesta eventualidade, resta ao doente duas outras opções: submeter-se a novo tratamento clínico, com boas chances de ter sua úlcera cicatrizada e a reoperação, submetendo-se agora a gastrectomia.

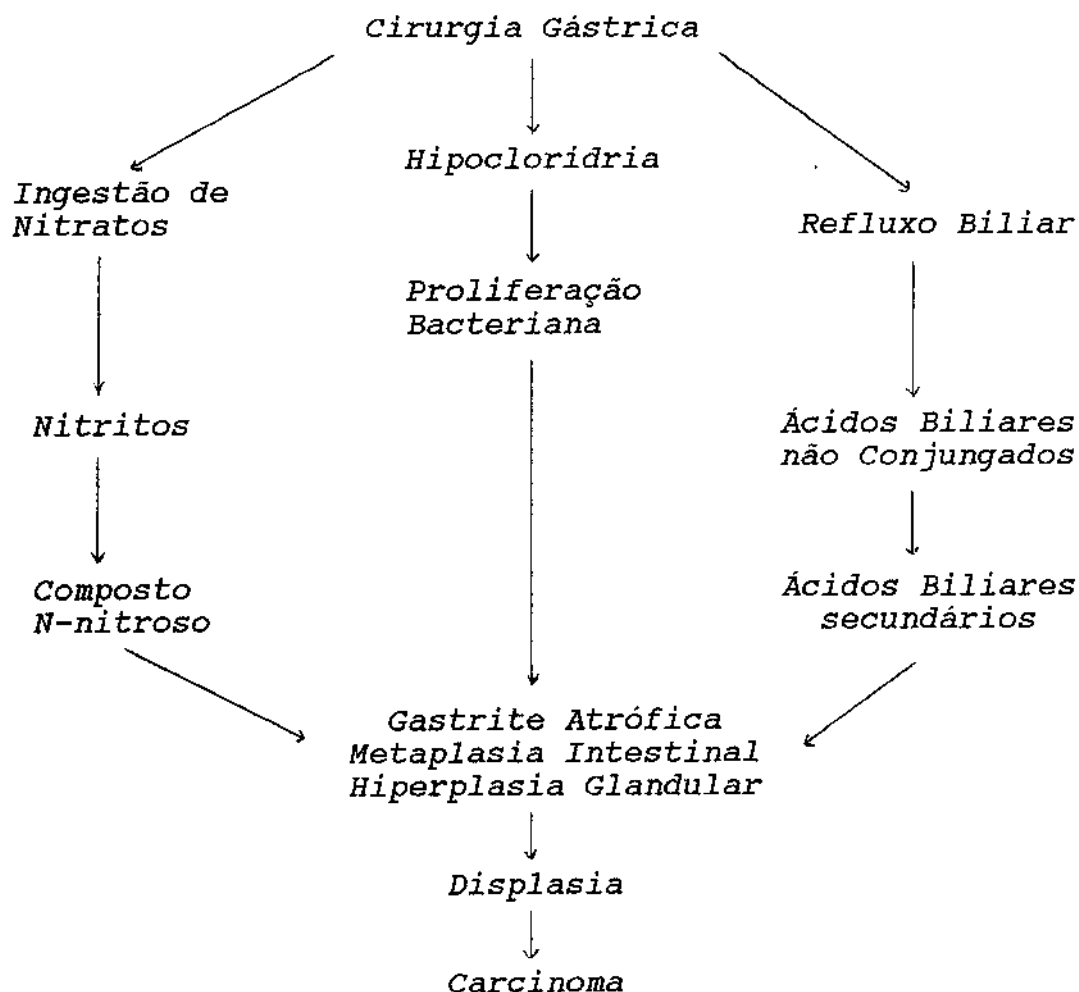
A úlcera péptica, principalmente a úlcera duodenal que é mais frequente, incide em países mais desenvolvidos e industrializados. É uma doença de etiologia multifatorial que tão logo não deixará de existir e, por muitos anos ainda, os médicos e pesquisadores tentarão a todo o custo encontrar a melhor solução para o seu tratamento.

Foi demonstrado com a revisão bibliográfica das publicações de casuísticas clínicas que a gastrectomia pode ser a melhor solução imediata ou a curto prazo para tratar o doente. Todavia, pensando a longo prazo, parece não ser a melhor solução, uma vez que predispõe em porcentagem elevada ao aparecimento do câncer, não apenas no estômago, mas até em outros órgãos.

Além disso, é aconselhável que o doente gastrectomizado, após aproximadamente 10 anos da cirurgia inicial, seja periodicamente seguido com realização de endoscopias digestivas e biópsias do coto gástrico remanescente, para que sejam detectadas precocemente lesões pré-neoplásicas.

Através da pesquisa experimental realizada foi mais uma vez comprovado que a gastrectomia a BII e a gastroenteroanastomose, propiciando refluxo enterogástrico constante e contínuo, hipocloridria e gastrite crônica na mucosa do estômago remanescente predispõem ao desenvolvimento de alterações celulares bem definidas até o surgimento do carcinoma. Os nitritos, nitratos e os derivados de aminoácidos à base de arginina ou outro com estrutura química semelhante, ingeridos pelos animais propiciaram o substrato necessário para a progressiva cadeia de alterações celulares a partir da gastrite crônica, passando pela metaplasia intestinal, hiperplasia glandular, displasia e terminando no carcinoma.

Na tentativa de correlacionar todos os fatores anteriormente mencionados, WATT et al. (1984b) e JACOBSEN & JENSEN (1985) propuseram o seguinte diagrama a seguir, com as teorias aceitas como responsáveis pela etiopatogenia do câncer do coto gástrico:



Um dos pontos que merece discussão nesta pesquisa é: a ocorrência de carcinoma nos animais foi um achado ocasional, ou sem dúvida ocorreu como consequência do(s) procedimento(s) realizado(s) e solução(ões) ingerida(s) ?

Analisando os resultados aqui apresentados, foi verificado que nenhum animal que ingeriu água apresentou carcinoma, tendo sido registrado em apenas um animal a presença de displasia (0,9%). Os casos de carcinoma foram registrados nos animais que ingeriram solução de nitrito + nitrato (2 animais) e solução de composto N-nitroso (4 animais), ocorrendo nestes grupos também a maior incidência de displasias.

Por outro lado, no grupo controle submetido a gastrotomia, dois animais (1,9%) apresentaram displasias, justamente os animais que ingeriram composto N-nitroso.

O carcinoma foi registrado nos demais grupos, sendo que dos seis animais em que ocorreu, três deles foram nos submetidos simplesmente a gastroenteroanastomose, e dentre estes, dois ingeriram solução de composto N-nitroso.

Dentre os dois animais que desenvolveram carcinoma após gastrectomia a BII, um foi após ingestão de solução de nitrito + nitrato e outro de composto N-nitroso. E o único animal que apresentou carcinoma após gastrectomia a Y de ROUX foi no grupo que ingeriu composto N-nitroso.

Os números acima são pequenos e não permitem análise estatística mais profunda para constatação de significância ou não. Porém, pode ser afirmado que foi constatado ocorrência de carcinoma em número maior de animais que ingeriram o composto N-nitroso (associação de BAA + nitrito + nitrato, acidificados).

Pensando que estes animais desenvolveram carcinoma porque teriam ingerido maior quantidade de solução de nitrito + nitrato ou de composto N-nitroso que os demais, foi feita análise estatística das quantidades de soluções e drogas ingeridas. E de fato, o grupo B3 (gastroenteroanastomose + composto N-nitroso) ingeriu maior quantidade de soluções em relação aos demais, entretanto a valores significativos apenas de Vd(2), Qd(2) e Nt e não significativos de Qt(2) e Nd. Nos demais grupos nenhuma diferença significativa foi notada, inclusive no grupo B2 (gastroenteroanastomose e nitrito + nitrato) em que foram registrados os menores valores de Vd(1), Qd(1) e Qt(1).

A elevada frequência de displasias e hiperplasias glandulares císticas registradas em comparação ao número não elevado de carcinomas, pode ser explicado pelo tempo de observação, o qual, se tivesse sido maior que oito meses, provavelmente acarretaria número mais elevado de carcinomas.

Assim, pela exaustiva revisão bibliográfica aqui apresentada e pelas conclusões da presente pesquisa experimental, pode-se afirmar que a gastrectomia sem dúvida predispõe ao aparecimento do carcinoma no coto gástrico. Além disso, a ingestão de nitritos, nitratos e compostos N-nitrosos favorece ao desenvolvimento do carcinoma do coto gástrico.

Os resultados desta pesquisa experimental confirmam integralmente as conclusões dos trabalhos em animais e casuísticas clínicas da literatura.

Estes fatos merecem divulgação mais ampla, tanto nos meios médicos, entre cirurgiões e clínicos que tratam doença péptica ulcerosa, quanto no âmbito da Saúde Pública e Medicina Preventiva.

Pesquisas futuras a nível celular são imprescindíveis para estabelecer os detalhes dos fundamentos da transformação neoplásica da célula gástrica em célula cancerosa, tanto após a gastrectomia, como após ingestão das citadas drogas, e suas relações com o refluxo biliar, pancreático e do conteúdo intestinal.

VI

CONCLUSÕES

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

1) As alterações histopatológicas no estômago operado foram muito variadas, tendo sido encontrado gastrite crônica, metaplasia intestinal, hiperplasia glandular cística, displasia e carcinoma;

2) As alterações histopatológicas variaram conforme o tipo de procedimento realizado, sendo que em cada um foi registrado um tipo de alteração mais evidente e significativa, sendo:

a) Gastrotomia - *gastrite crônica* (66,6%);

b) Gastroenteroanastomose + Vagotomia Troncular - *hiperplasia glandular cística* (55,6%);

c) Gastrectomia a BILLROTH II + Vagotomia Troncular - *hiperplasia glandular cística* (48,2%);

d) Gastrectomia a Y de ROUX + Vagotomia Troncular - *gastrite crônica* (33,3%);

3) Nesta pesquisa não foi registrado ocorrência de carcinoma em nenhum dos animais que ingeriram água. Apenas um animal submetido a gastroenteroanastomose ingerindo água, apresentou *displasia* (2,7%);

4) A ingestão das soluções de nitrito + nitrato de potássio e de composto N-nitroso (BAA + nitrito + nitrato de potássio acidificados) provocou alterações histopatológicas importantes e significativas no estômago dos animais, sendo que os

achados de *hiperplasia glandular cística - displasia - carcinoma* foram significantes ($p < 0,05$) nos animais que ingeriram estas soluções;

5) Na análise comparativa entre os valores médios das soluções ingeridas entre os grupos, foi encontrado que no grupo de animais submetidos a gastroenteroanastomose + vagotomia troncular e que ingeriram solução de composto N-nitroso, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) com os demais grupos. Neste grupo, as quantidades ingeridas da referida droga foram superiores e, justamente ocorreram dois animais (7,4%) com *carcinoma*.

6) Os estudos das alterações histopatológicas comparando-se as soluções ingeridas e o tipo de procedimento realizado evidenciou que:

a) não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os procedimentos realizados e as soluções ingeridas, quanto à presença de *gastrite crônica*;

b) houve diferença estatística ($p < 0,05$) quando foi comparado a presença de *hiperplasia glandular cística* entre os procedimentos gastrotomia/gastroenteroanastomose e gastrectomia a BILLROTH II e a Y de ROUX, sendo mais significantes nestes dois últimos procedimentos;

c) não houve diferença estatística ($p > 0,05$) quando foi comparado os achados histopatológicos *normal-metaplasia*, com *hiperplasia glandular cística e displasia-carcinoma*, entre os animais submetidos a gastroenteroanastomose, gastrectomia a BILLROTH II e a Y de ROUX;

d) a ocorrência de *carcinoma* foi nos animais que ingeriram soluções de nitrito + nitrato e composto N-nitroso e submetidos a gastroenteroanastomose (3 animais - 11,1%), a gastrectomia a BILLROTH II (2 animais - 7,4%) e a Y de ROUX (1 animal - 3,7%).

VII

RESUMO

O câncer do coto gástrico é definido como o carcinoma que ocorre no estômago remanescente após a ressecção gástrica ter sido realizada por doença benigna.

Revisões de casuísticas clínicas demonstram que a sua ocorrência é mais frequente após a reconstrução a BILLROTH II, no sexo masculino e em doentes previamente operados por úlcera duodenal.

A probabilidade de ocorrer o câncer do coto gástrico eleva-se principalmente após 20 anos da cirurgia inicial, sendo que após os 25 ou 35 anos, atinge 5 a 8 vezes mais em comparação à população de doentes não gastrectomizados da mesma faixa etária. Além disso, é descrito risco mais elevado de câncer de esôfago, colorretal, pâncreas, mama, fígado e pulmões em doentes gastrectomizados.

A carcinogênese do coto gástrico tem sido atribuída a vários fatores, a saber: ao refluxo bílio-pancreático, à acloridria ou hipocloridria, à gastrite atrófica, à população bacteriana atípica, à dieta alimentar e fatores ambientais, à ação de nitritos e nitratos e compostos N-nitrosos, à junção de dois tipos diferentes de epitélio na linha de sutura e outros.

Pesquisas experimentais minuciosamente elaboradas nos últimos anos, utilizando ou não drogas carcinogênicas em animais gastrectomizados com vários tipos de reconstrução do trânsito digestivo, tentam demonstrar a participação e importância destes fatores etiopatogênicos acima descritos. Os autores são unânimes em afirmar que mais de um fator está envolvido.

A ação de fatores ambientais e dietéticos têm aceitação geral na literatura, como responsáveis pela etiopatogenia do câncer gástrico de indivíduos não gastrectomizados. Estes fatores envolvem o consumo de nitrito e nitratos e outros alimentos que contém aminoácidos, como a arginina e a prolina, dando origem a compostos chamados N-

nitrosos. São conhecidos mais de 200 compostos N-nitrosos sabidamente carcinogênicos aos órgãos do aparelho digestivo.

A inexistência de pesquisas experimentais elaboradas para investigar especificamente as alterações histopatológicas causadas pelos nitritos, nitratos e compostos N-nitrosos no estômago operado, motivou o desenvolvimento desta pesquisa.

Foram empregados 108 ratos machos da raça WISTAR divididos em 4 grupos distintos, conforme o procedimento realizado: *gastrotomia* (27 animais), *gastroenteroanastomose + vagotomia troncular* (27 animais), *gastrectomia a BILLROTH II + vagotomia troncular* (27 animais) e *gastrectomia a Y de ROUX + vagotomia troncular* (27 animais).

Cada um destes grupos foi redividido em três outros, contendo nove animais, ingerindo durante oito meses, respectivamente: *água*, *solução aquosa de nitrito de potássio* (30 mg/kg de peso/dia) + *nitrato de potássio* (30 mg/kg de peso/dia) e *composto N-nitroso*. O composto N-nitroso foi obtido mediante associação em solução aquosa *nitrito de potássio* (30 mg/kg de peso/dia) + *nitrato de potássio* (30 mg/kg de peso/dia) + *N-Benzoyl-L-argininamida* (BAA - 64 mg/litro) + *ácido nítrico* (0,06 ml/litro de solução).

Após o período de observação os animais foram sacrificados, tiveram seus estômagos retirados para estudos macroscópicos e microscópicos. Através de colorações com hematoxilina-eosina foram registradas as alterações histopatológicas em cada animal.

Durante o tempo de observação, os animais tiveram seu peso controlado, bem como os volumes ingeridos das respectivas soluções, para que ao final da pesquisa pudessem ser calculadas as quantidades ingeridas das drogas, correlacionando-as com as alterações histopatológicas.

A análise macroscópica das peças evidenciaram presença de úlceras e tumores no estômago operado. As alterações histopatológicas evidenciadas à microscopia foram variadas: gastrite crônica, metaplasia intestinal, hiperplasia glandular cística, displasia e carcinoma, as quais foram analisadas comparativamente em relação aos procedimentos cirúrgicos realizados e soluções ingeridas.

As alterações histopatológicas variaram conforme o tipo de procedimento realizado, sendo que em cada um foi registrado um tipo de alteração mais evidente e significativa, a saber: a) Gastrotomia - *gastrite crônica* (66,6%); b) Gastroenteroanastomose + Vagotomia Troncular - *hiperplasia glandular cística* (55,6%); c) Gastrectomia a BILLROTH II + Vagotomia Troncular - *hiperplasia glandular cística* (48,2%) e d) Gastrectomia a Y de ROUX + Vagotomia Troncular - *gastrite crônica* (33,3%).

Não foi registrado ocorrência de carcinoma em nenhum dos animais que ingeriram água. Apenas um animal submetido a gastroenteroanastomose ingerindo água, apresentou *displasia* (2,7%). A ingestão das soluções de nitrito + nitrato de potássio e de composto N-nitroso (BAA + Nitrito + nitrato de potássio acidificados) provocou alterações histopatológicas importantes e significativas no estômago dos animais, sendo que os achados de *hiperplasia glandular cística - displasia - carcinoma* foram significantes ($p < 0,05$) nos animais que ingeriram estas soluções.

Os estudos das alterações histopatológicas comparando-se as soluções ingeridas e o tipo de procedimento realizado evidenciou que: a) não houve diferença estatística significativa ($p > 0,05$) entre os procedimentos realizados e as soluções ingeridas, quanto à presença de *gastrite crônica*; b) houve diferença estatística ($p < 0,05$) quando foi comparado a presença de *hiperplasia glandular cística* entre os procedimentos gastrotomia/gastroenteroanastomose e gastrectomia a BILLROTH II e a Y de ROUX, sendo mais significantes nestes últimos procedimentos; c) não houve diferença estatística ($p > 0,05$) quando foi comparado os achados de *normal-metaplasia*, com

hiperplasia glandular cística e displasia-carcinoma, entre os animais submetidos a gastroenteroanastomose, gastrectomia a BILLROTH II e a Y de ROUX; d) a ocorrência de *carcinoma* foi nos animais que ingeriram soluções de nitrito + nitrato e composto N-nitroso e submetidos a gastroenteroanastomose (3 animais - 11,1%), a gastrectomia a BILLROTH II (2 animais - 7,4%) e a Y de ROUX (1 animal - 3,7%).

Na análise comparativa entre os valores médios das soluções ingeridas entre os grupos, foi encontrado que no grupo de animais submetidos a gastroenteroanastomose + vagotomia troncular e que ingeriram solução de composto N-nitroso, houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$) com os demais grupos. Neste grupo, as quantidades ingeridas da referida droga foram superiores, e justamente ocorreram dois animais (7,4%) com *carcinoma*.

Tendo em vista estes resultados pode-se concluir que alterações fisiopatológicas importantes instalam-se no estômago operado dos animais, provocando mudanças significativas na mucosa, de tal forma que, quando os mesmos são submetidos a ingestão de drogas tais como as que foram utilizadas nesta pesquisa, ocorrem alterações histopatológicas progressivas até o desenvolvimento do *carcinoma*.

VIII

SUMMARY

CONTRIBUTION TO THE ETIOPATHOGENY OF THE GASTRIC STUMP CANCER

The gastric stump cancer is defined as a carcinoma arising in the remnant stomach after the gastric resection performed to treat benign diseases.

Literature revision of clinic casuistics shows that the occurrence is more frequent after BILLROTH II reconstruction, in males and patients previously operated for duodenal ulcers.

The probability of gastric stump cancer arising increases especially 20 years after the former surgery. It grows still higher 25 or 30 years afterwards, reaching 5 to 8 folds more than the no gastrectomized patients in the same age groups. Besides, high risk of esophageal, colorectal, pancreatic, mammary, liver and lung cancer developing in gastrectomized patients has been described.

The gastric stump carcinogenesis has been attributed to several etiologies: bilio-pancreatic reflux, achlorhydria, hypochlorhydria, atrophic gastritis, atypical bacteria, food and environmental factors, nitrites, nitrates, N-nitroso compounds, the two different types of epithelium in the suture line and others.

Detailed experimental researchs carried out, with or without carcinogenic drugs in gastrectomized animals, with many types of digestive transit reconstruction, has tried to show the participation and importance of the above described etiologies.

The influence of diet and the environmental factors have general acceptance in the literature, as responsible for the etiopathogeny of the gastric cancer in no gastrectomized people. These factors involve the consumption of nitrites, nitrates and other foods containing aminoacides such as arginine and proline, originating products named N-nitroso compounds. More than 200 N-nitroso compounds are known as carcinogenic to the digestive tract.

The lack of specific experimental researches to investigate the histopathological findings, secondary to the chronic ingestion of nitrite, nitrates and N-nitroso compounds on the operated stomach, encouraged the realization of this study.

It was employed 108 male WISTAR rats, divided into 4 groups, as the following schedule: *gastrotomy (GT)* - 27 animals; *gastroenteroanastomosis plus truncal vagotomy (GE + TV)* - 27 animals; *BILLROTH II gastrectomy plus truncal vagotomy (BII + TV)* - 27 animals and *ROUX-en-Y gastrectomy plus truncal vagotomy (RY + TV)* - 27 animals. Each was subdivided into 3 groups, with nine animals. They were given the following solutions to drink during eight months: water only; aqueous solution of potassium nitrite (30 mg/kg of body weight/day) plus potassium nitrate (30 mg/kg of body weight/day) and N-nitroso compound. The N-nitroso compound was obtained by the association of aqueous solution of potassium nitrite and potassium nitrate (30 mg/kg of body weight/day each) plus N-Benzoyl-L-argininamide (BAA - 64 mg/litre) plus nitric acid (0.06 ml/litre of solution).

After the period of eight months drinking the specified drugs, the rats were sacrificed, the stomachs were removed and macroscopic and microscopic studies were performed. The histopathological findings of each animal were recorded after hematoxiline-eosine staining.

The body weight of all animals was measured throughout the study, as well as the volumes of the solutions drunk so that at the end of the research, the amounts of the drugs ingested could be calculated and compared with the type of histopathological findings.

The macroscopic analysis of the specimens showed ulcers and tumors in the operated stomach. The histopathological findings of the microscopic studies were varied: chronic gastritis, intestinal metaplasia, cystic glandular hyperplasia, dysplasia and carcinoma. They were analysed and compared with the surgical procedure performed and the ingested solutions.

The histopathological findings changed accordingly to the type of procedure: a) GT - *chronic gastritis* (66,6%); b) GE + TV - *cystic glandular hyperplasia* (55,6%); c) BII + TV - *cystic glandular hyperplasia* (48,2%) and d) RY + TV - *chronic gastritis* (33,3%). Carcinomas were not recorded in the animals that only ingested water. Just one animal submitted to GE + TV ingesting water presented dysplasia (2,7%).

The ingestion of the solutions containing nitrite + nitrate and N-nitroso compound (BAA + nitrite + nitrate, acidified) led to some quite important histopathological alterations found in the operated stomach. The *cystic glandular hyperplasia-dysplasia-carcinoma* findings were statistically significant ($p < 0.05$) in the animals that ingested the above solutions.

The studies of the histopathological findings comparing the solutions ingested and the procedure performed showed: a) no statistically significant difference ($p > 0.05$) between the procedures performed and the solutions ingested, as for the presence of *chronic gastritis*; b) statistically significant difference ($p < 0.05$) when the presence of *cystic glandular hyperplasia* were compared between the procedures GT/GE + TV and BII + TV/RY + TV, being more significative in the latter procedures; c) no statistically significant difference ($p > 0.05$) when the findings of *normal-intestinal metaplasia* with *cystic glandular hyperplasia* and *dysplasia-carcinoma* were compared among the animals submitted to GE + TV, BII + TV and RY + TV; d) the carcinoma was found in those animals submitted to the GE + TV (3 animals - 11,1%), to the BII + TV (2 animals - 7,4%) and RY + TV (1 animal - 3,7%) which ingested nitrite, nitrate and N-nitroso compound.

The comparative analysis of the average values of the ingested solutions among the groups has shown that in the animals submitted to gastroenteroanastomosis plus truncal vagotomy and which ingested N-nitroso compound solution, there was an statistically significant difference ($p < 0,05$) with the other groups. The ingested

amounts of the above drug were higher in this group, and the occurrence of *carcinoma* was observed in two animals (7,4%).

The conclusions are that important and considerable physiopathological changes occur in the operated stomach of the animals, causing significative alterations in the gastric mucosa. When the animals ingest drugs like these employed in this research, progressive histopathological alterations occur towards the development of the gastric carcinoma.

IX

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAÃO, A.; POSSIK, R.A.; CAPPELLANO, R.S.L.; AMARANTE NETO, A.P.- Câncer Primário do Coto Gástrico: Considerações sobre 18 casos. *Revta. Paul. Med.*, 97: 116-20, 1981.
- ADAM, Y.G.; EFRON, G.- Trends and Controversies in the Management of Carcinoma of the Stomach. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 169: 371-85, 1989.
- AMGWERD, R.; GRUNDLER, P.- Das Magenstrumpkarzinom - ein Resektionskarzinom? *Acta. Chir. Helv.*, 51: 1-44, 1984.
- ANDREWS, A.W.; LIJINSKY, W.; SNYDER, S.W.- Mutagenicity of amine drugs and their products of nitrosation. *Mutation Res.*, 135: 105-8, 1983.
- AQUINO, J.L.B.; QUILICI, F.A.; REIS NETO, J.A.; AQUINO NETO, P.A.; SCHPPALIR, M.E.Q. Neoplasia Primária do Coto Gástrico. *Rev. Col. Brasil. Cir.*, 12: 89-92, 1985.
- ARMJO, R.; COULSON, A.H. Epidemiology of Stomach Cancer in Chile. The Role of Nitrogen Fertilizers. *Int. J. Epidemiol.*, 4: 301-9, 1975.
- BALFOUR, D.C. Factors Influencing the Life Expectancy of Patients Operated on for Gastric Ulcer. *Ann. Surg.*, 76: 405-8, 1922.
- BARTSCH, H.; MONTESANO, R. Relevance of Nitrosamines to Human Cancer. *Carcinogenesis*, 11: 1381-93, 1984.
- BERESFORD, S.A.A. Is Nitrate in the Drinking Water Associated with the Risk of Cancer in the Urban U. K. ? *Int. J. Epidemiol.*, 14(1): 57-63, 1985.
- BILLROTH, T. - Offenes Schreiberin an Herrn Dr. L. Wittelshofer. *Wien. Med. Wochenschr.*, 31: 161, 1881.
- BOECKL, O.; LILL, H. - Uber das Magenstumpfkarzinom. *Munch. Med. Wschr.*, 105: 615-18, 1963.
- BRALOW, S.P. - Experimental Gastric Carcinogenesis. *Digestion*, 5: 290-310, 1972.
- BRAUN, S. (1892) - Citado por BURGE, H. (1978) *op.cit*

BULAY, O.; MIRVISH, S.S.; GARCIA, H.; PELFRENE, A.F.; GOLD, B.; EAGEN, M. - Carcinogenicity Test of Six Nitrosamides and a Nitrosocynamide Administered Orally to Rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **62(6)**: 1523-28, 1979.

BULLOCK, F.D.; CURTIS, M.R. - Spontaneous Tumors of the Rat. *J. Cancer Res.*, **14**: 1-8, 1930.

BURGE, H. - *VAGOTOMIA*. Ed. Toray, 1^o ed. Barcelona, 1978. p.1-213.

BYERS, T. - Food, Additives and Cancer. *Post. Med.*, **4(5)**: 275-8, 1988.

CAPPER, W.; DAINTREE JOHNSON, H. - Vagotomy and Carcinoma of the Stomach. *Lancet*, **2**: 1063-4, 1964.

CARTER, D.C. - Cancer after Peptic Ulcer Surgery. *GUT*, **28**: 921-2, 1987.

CASTELLANOS, D.; MENCHEN, P.L.; SENENT, M.C.; CLEMENTE, G.; GOMEZ, J.P.; RABALO, L.; VELO, J.L.; LOPEZ DE LA RIVA, M.; ALCALA SANTAELLA, R. - Cancer Primitivo del Munon Gastrico. *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, **63(3)**: 229-34, 1983.

CAYGILL, C.P.J.; HILL, M.J.; KHIRKAM, J.S.; NORTHFIELD, T.C. - Mortality from Gastric Cancer Following Gastric Surgery for Peptic Ulcer. *Lancet*, **1**: 929-31, 1986.

CAYGILL, C.P.J.; HILL, M.J.; HALL, C.N.; KHIRKAM, J.S.; NORTHFIELD, T.C. - Increased Risk of Cancer at Multiple Sites after Gastric Surgery for Peptic Ulcer. *GUT*, **28**: 924-28, 1987.

CAZOTTES, C.; FRITSCH, P.; GAS, N.; BLANQUAT, G.S. - Nitrates et Nitrites: Impacts Nutritionnels Chez le Rat. *Ann. Nutr. Metab.*, **25**: 182-93, 1981.

CLARK, D.G.; LITCHFIELD, M.H. - Role of Inorganic Nitrite in Methemoglobin Formation after Nitrate Ester Administration to the Rat. *Brit.J.Pharmacol.*, **48**: 162-8, 1973.

CLARK, C.G.; FRESINO, A.; GLEDHILL, T. - Cancer Following Gastric Surgery. *Brit. J. Surg.*, **72**: 591-4, 1985.

CÓDIGO SANITÁRIO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Editado por Imprensa Oficial do Estado S/A - IMESP. Decreto N^o 12.342 de 27/09/1978, 1982. p.285-287.

- CORDEIRO, F.; FARIA, H.; MIRANDA, M.A.; KNECHT, R.; CAVALCANTI, F.M.S. - Carcinoma Primário do Estômago Operado. *GED.*, 2: 51-4, 1983.
- CORREA, P - Is Gastric Carcinoma an Infectious Disease ?
N.Engl.J.Med., 325(16): 1170-1, 1991.
- CORREA, P.; CUELLO, C.; DUQUE, E. - Carcinoma and Intestinal Metaplasia of the Stomach in Colombian Migrants. *J.Natl. Cancer Inst.*, 44: 297-306, 1970.
- CORREA, P.; HAENSZEL, W.; CUELLO, C.; TANNENBAUM, S.; ARCHER, M. - A model for Gastric Cancer Epidemiology. *Lancet*, 2: 58-9, 1975.
- CUELLO, C.; CORREA, P.; HAENSZEL, W.; GORDILLO, G.; BROWN, C.; ARCHER, M.; TANNENBAUM, S. - Gastric Cancer in Colombia. I. Cancer Risk and Suspect Environmental Agents. *J. Natl. Cancer Inst.*, 57: 1015-20, 1976.
- DAHM, K. ; WERNER, B. - Experimentelles Anastomogencarcinon Ein Beitrag Zur Pathogenese Des Managenstumpf Carcinoms. *Langenbecks Arch. Chir.*, 333: 211-36, 1973.
- DE ANNA, D.; GUERRERA, C.; MARCELLO, D.; PANSINI, G.C.; CARRELLA, G.; POZZA, E.; GASBARRO, V.; SORTINI, A.; RUBBINI, M.; MARZOLA, R.; OLIVIERI, P.; DONINI, I. - La Nostra Esperienza in Tema di Terapia del Ca del Moncone Gastrico. *Min. Chir.*, 42: 761-4, 1987.
- DEUS-FOMBELLIDA, J.; de RETANA, J.O.; GARIN-CHESA, P.; LOZANO, R. - Late Postgastrectomy Sequellae: Primary Cancers of the Gastric Stump. *Rev. Esp. Oncol.*, 27(4): 579-600, 1980.
- DE VRIES, B.C.; SCHATTENKERK, M.E.; SMITH, E.E.J.; SPENCER, J.; JACKSON, D.S.; ALEXANDER-WILLIAMS, J.; DORRICOFF, N.J. - Prospective Randomized Multicentre Trial of Proximal Gastric Vagotomy or Truncal Vagotomy and Antrectomy for Chronic Duodenal Ulcer: Results after 5 - 7 years. *Br. J. Surg.*, 70:701-3, 1983.
- DITTRICH, S.T.; SEFFNER, W.E.; SEIDEL, R. - Einflub von Nitrat and Ascorbinsaure auf die Karzinognese im Operierten Rattenmagen. *Arch. Geschwulstforsch*, 58(4): 235-42, 1988.
- DOCOBO DURANTEZ, F.; LOZANO CRIVEL, M.; FERNANDEZ DOVALE, M.; BUEZAS MARTINEZ, G. - Carcinoma del Munon Gastrico tras Cirugia por Ulcus Gastroduodenal. *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 75: 353-8, 1989.

- DOCOCO DURANTEZ, F.; FERNANDEZ DO VALE, M.; LOZANO CRIVEL, M.; DEL ALAMO JURGADO, C. - Riesgo de Carcinoma Gastrico tras Vagotomia. *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, 77: 323-6, 1990.
- DOMELLOFF, L.; ERIKSSON, S.; JANUNGER, K.G. - Late Precancerous Changes and Carcinoma of the Gastric Stump after BILLROTH I Resection. *Am. J. Surg.*, 132: 26-31, 1976.
- DOMELLOFF, L.; ERIKSSON, S.; JANUNGER, K.G. - Carcinoma and Possible Precancerous Changes of the Gastric Stump after BILLROTH II Resection. *Gastroenterology*, 73: 462-8, 1977.
- DONAHUE, P.E.; BOMBECK, C.T.; CONDON, R.E.; NYHUS, L.M. - Proximal Gastric Vagotomy versus Selective Vagotomy with Antrectomy: Results of a Prospective, Randomized Clinical Trial after four to twelve years. *Surgery*, 96(4): 585-91, 1984.
- DONY, A.; WITTE, C.L.; SERSTE, J.P.; DESCHREYER, M. - Le Cancer du Moignon Gastric Apres Gastrectomie pour Ulcore. *Acta. Gastro-Ent. Belg.*, 36: 544-60, 1973.
- DRAGSTEDT, L.R.; OWENS, F.M. - Supradiaphragmatic Section of the Vagus Nerves in the Treatment of Duodenal Ulcer. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 53: 152-3, 1943.
- DUCKREY, H.; STEINHOFF, D.; BUETHNER, H.; SCHNEIDER, H.; KLARNER, P. - Prufung vn Nitrit auf Chronisch Toxische Wirkung an Ratten. *Arzneimittel-Forsch.*, 13: 320-3, 1963.
- DUTT, M.C.; LIM, H.Y.; CHEW, R.K.H. - Nitrate Consumption and the Incidence of Gastric Cancer in Singapore. *Fd. Chem. Toxic.*, 25(7): 515-20, 1987.
- ELDER, J.B.; GANGULI, P.C.; GILLESPIE, I.E. - Cimetidine and Gastric Cancer. *Lancet*, 2: 1005-6, 1979.
- ENDO, H.; TAKAHASHI, K.A. - Nitrosated Arginine Derivative a Powerful Mutagen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 52(1): 254-62, 1973a.
- ENDO, H.; TAKAHASHI, K. - Methylguanidine a Naturally Ocurring Compound Showing Mutagenecity after Nitrosation in Gastric Juice. *Nature*, 245: 325-6, 1973b.

- ENDO, H.; TAKAHASHI, K. - Identification and Property of the Mutagenic Principle Formed from a Food-component, Methylguanidine, after Nitrosation in Simulated Gastric Juice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **54**: 1384-92, 1973c.
- ENDO, H.; TAKAHASHI, K.; KINOSHITA, N.; BABA, T. - Production of Gastric and Esophageal Tumors in Rats by Methylnitrosocyanamide, a Possible Candidate of Etiologic Factors for Human Gastric Cancer. *Proc. Japan Acad.*, **50**: 497-502, 1974.
- FEIT, J.; SVEJDA, J.; SOCHOROVA, M.: - Experimental Intestinal Metaplasia of Gastric Mucosa of Rats and its Relationship to Carcinoma. *Neoplasma*, **14**: 285-90, 1967.
- FISCHER, A.B.; GRAEM, N.; JENSEN, O.M. - Risk of Gastric Cancer after BILLROTH II Resection for Duodenal Ulcer. *Brit. J. Surg.*, **70**: 552-4, 1983.
- FISCHER, A.; GRAEM, N. - Gastric Stump Carcinoma - Is Prophylatic Screening Indicated? *Acta. Chir. Scand.*, **547**(Suppl.): 86-7, 1988.
- FORMAN, D.; AL-DABBAGH, S.; DOLL, R. - Nitrates, Nitrites and Gastric Cancer in Great Britain. *Nature*, **313**: 620-5, 1985.
- FRASER, P.; CHILVERS, C.; BERAL, V.; HILL, M.J. - Nitrate and Human Cancer: A Review of the Evidence. *Int. J. Epidemiol.*, **9**: 3-11, 1980.
- FREIRE, E.C.S.; MANSO, E.; FIGUEIREDO, M.V.; MAIA, F. - A Gastrectomia na Úlcera Duodenal Estenosante. In: LEONARDI, L.S. *Controvérsias na Cirurgia do Aparelho Digestivo*. Ed. Medsi, São Paulo, 1991. p.143-55.
- FUKUSHIMA, S.; TATEMATSU, M.; TAKAHASHI, M. - Combined Effect of Various Surfactants on Gastric Carcinogenesis in Rats Treated with N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. *Gann*, **65**: 371-6, 1974.
- GEBOES, K.; RUTGEERTS, P.; BROECHAERT, L.; VANTRAPPEN, G.; DESMET, V. - Histologic Appearances of Endoscopic Gastric Mucosae Biopsies 10-20 Years after Partial Gastrectomy. *Ann. Surg.*, **192**: 179-82, 1980

- GJERULDSSEN, S.T.; MYREN, J.; FRETHEIM, B.- Alterations of Gastric Mucosa Following a Graded Partial Gastrectomy for Ulcer. *Scand. J. Gastroenterol.*, **3**: 465-8, 1968.
- GOUGH, T.A.; McPHAIL, M.F.; WEBB, K.S.; WOOD, B.J.; COLEMAM, R.F. - An Examination of Some Foodstuffs for Presence of Volatile Nitrosamines. *J. Sci. Food. Agric.*, **28**: 345-9, 1977.
- GRAEM, N.; FISCHER, A.B.; HASTRUP, N.; POVLSEN, C.O. - Mucosal Changes of the Billroth II Resected Stomach. A Follow-up Study of Patients Resected for Duodenal Ulcer with Special Reference to Gastritis, Atypia and Cancer. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect.*, **89**: 227-34, 1981.
- GRAEM, N.; FISCHER, A.B.; BECK, H. - Dysplasia and Carcinoma in the Billroth II Resect Stomach, 27-35 Years Postoperatively. *Acta. Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, **92**: 185-8, 1984.
- GRAFE, W.; THORBHARNARSON, B.; PEARCE, J.M.- Benign Neoplasms of Stomach. *Am. J. Surg.*, **100**: 561-71, 1960.
- GRAHAM, S.; SCHOTZ, W.; MARTINO, P. - Alimentary Factors in the Epidemiology of Gastric Cancer. *Cancer*, **30(4)**: 927-38, 1972.
- GRAHAME, E.W. - Vagotomy and Carcinoma of the Stomach. *Lancet*, **1**: 109, 1965.
- GRIFFITH, C.A.; HARKINS, H.N. - Partial Gastric Vagotomy: an Experimental Study. *Gastroenterology*, **32**: 96-102, 1957.
- GRUNDMANN, E. - Histologic Types and Possible Initial Stages in Early Gastric Carcinoma. *Beitr. Pathol.*, **154**: 256-9, 1975.
- HAENSZEL, W.; KURIHARA, M.; SEGI, M.; LEE, R.K.C. - Stomach Cancer Among Japanese in Hawaii. *J. Natl. Cancer Inst.*, **49**: 969-88, 1972.
- HALL, C.N.; DARKIN, D.; BRIMBLECOMBE, R.; COOK, A.J.; KIRKHAM, J.S.; NORTHFIELD, T.C. - Evaluation of the Nitrosamine Hypothesis of Gastric Carcinogenesis in Precancerous Conditions. *GUT*, **27**: 491-8, 1986.
- HELSINGEN, N.; HILLESTAD, L. - Cancer Development in the Gastric Stump after Partial Gastrectomy for Ulcer. *Ann. Surg.*, **143(2)**: 173-9, 1956.

- HERRINGTON, J.L.; SAWYERS, J.L.; SCOTT, H.W.Jr. - A 25-year Experience with Vagotomy-Antrectomy. *Arch. Surg.*, **106**: 469-74, 1973.
- HILBE, G.; SALZER, G.M.; HUSSL, H.; KUTSCHERA, H. - Die Karzinomgefährdung des Resektionsmagens. *Langenbecks Arch. Chir.*, **323**: 141-53, 1968.
- HILL, M.J.; HAWKSWORTH, G.M.; TATTERSALL, G. - Bacteria, Nitrosamines and Cancer of the Stomach. *Brit. J. Cancer*, **28**: 562-7, 1973.
- HOMBURGER, F.; HANDLER, A.H.; SOTO, E.; HSUCH, S.S.; VAN DONGEN, C.G.; RUSSFIELD, A.B. - Adenocarcinoma of the Glandular Stomach Following 3-methylcholanthrene, N-nitrosodiethylamine and N-nitrosodimethylamine Feeding in Carcinogen-susceptible Syrian Hamsters. *J. Natl. Cancer Inst.*, **57**: 1413-8, 1976.
- HOTCHKISS, J.H. - A Review of Current Literature on N-Nitroso Compounds in Foods. *Adv. Food Res.*, **31**: 55-115, 1987.
- HOUGHTON, P.W.J.; MORTENSEN, N.J. MCC; WILLIAMSON, R.C.N. - Effect of Duodenogastric Reflux on Gastric Mucosal Proliferation after Gastric Surgery. *Brit. J. Surg.*, **74**: 288-91, 1987.
- HOWSON, C.P.; HIYAMA, T.; WYNDER, E.L. - The Decline in Gastric Cancer: Epidemiology of an Unplanned Triumph. *Epidemiol. Rev.*, **8**: 1-27, 1986.
- INAI, K.; AOKI, Y.; TOKUOKA, S. - Chronic Toxicity of Sodium Nitrite in Mice, with Reference to its tumorigenicity. *Gann*, **70**: 203-8, 1979.
- INOKUCHI, K.; TOKUDOME, S.; IKEDA, M.; KURATSUNE, M.; ICHIMIYA, H.; KAIBARA, N.; IKEJIRI, T.; OKA, N. - Mortality from Carcinoma after Partial Gastrectomy. *Gann*, **75**(7): 588-94, 1988.
- ISHIZAWA, M.; UTSUNOMIYA, T.; KINOSHITA, N.; ENDO, H. - Formation of Methylnitrosocyanamide from Methylguanidine and Sodium Nitrite in Simulated Gastric Juice and in Stomachs of Rats: Quantitative Estimation by Mutagenicity Assay. *J. Natl. Cancer Inst.*, **62**: 71-7, 1979.
- JABOULAY, M. (1900) - Citado por BURGE, H. (1978) *op.cit.*
- JACOBSEN, P.; JENSEN, O.M. - Nitrat og Ventrikelcancer. *Ugeskr. Laeger.*, **147**(17): 1427-32, 1985.

- JIANG, S.J.; LIU, W.Z.; ZHANG, D.Z.; SHI, Y.; XIAO, S.D.; ZHANG, Z.H.; LU, D.Y. - Campilobacter-like Organisms in Chronic Gastritis, Peptic Ulcer, and Gastric Carcinomas. *Scand. J. Gastroenterol.*, 22(5): 553-8, 1987.
- JOHNSON, H.D. - Gastric Ulcer: Classification, Blood Group Characteristics, Secretion Patterns and Pathogenesis. *Ann. Surg.*, 161: 996-1004, 1965.
- JONES, S.M.; DAVIES, F.W.; SAVAGE, A. - Gastric Juice Nitrite and Gastric Cancer. *Lancet*, 1: 1355, 1978.
- KEIGHLEY, M.R.B.; YOUNGS, D.; POXON, V.; MORRIS, D.; MUSCROFT, T.J.; BURDON, D.W.; BARNARD, J.; BAVIN, P.M.G.; BRINBLECOMBE, R.W.; DARKIN, D.W.; MOORE, P.J.; VINEY, N. - Intragastic N-nitrosation is Unlikely to be Responsible for Gastric Carcinoma Developing after Operations for Duodenal Ulcer. *GUT*, 25: 238-45, 1984.
- KIDOKORO, T.; HAYASHIDA, Y.; URABE, M. - Long Term Surgical Results of Carcinoma of the Gastric Remnant: A Statistical Analysis of 613 Patients from 98 Institutions. *World J. Surg.*, 9: 966-71, 1985.
- KIVELITZ, H.; MULLER, E.; KLEINSCHMIDT, F.; LOOSE, D. - Das Magenstrumpfkarcinom nach Ulkusresktion. *Bruns. Beitr. Klin. Chir.*, 220: 253-5, 1973.
- KOBAYASI, S. - *Lesões de Mucosa e Carcinogênese do Coto Gástrico, em Ratos. Influência do Refluxo do Conteúdo Duodenal*. Botucatu, 1990. Tese de Livre-Docência, Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista
- KOBORI, O.; SHIMIZU, T.; MAEDA, M.; ATOMI, Y.; WATANABE, J.; SHOJI, M.; MORIOKA, Y. - Enhancing Effect of Bile and Bile Acid on Stomach Tumorigenesis Induced by N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine in WISTAR Rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, 73: 853-61, 1984.
- KONDO, K.; SUZUKI, H.; NAKAYO, T. - The Influence of Gastrojejunal Anastomosis on Gastric Carcinogenesis in Rats. *Gann.*, 75: 362-9, 1984.
- KONO, S.; IKEDA, M.; OGATA, M. - Salt and Geographical Mortality of Gastric Cancer and Stroke in Japan. *J. Epidemiol. Comm. Health.*, 37: 43-6, 1983.
- KORN, E.R. - Intestinal Metaplasia of the Gastric Mucosa. Endoscopic Recognition and Review of the Literature. *Am. J. Gastroenterol.*, 61: 270-5, 1974.

- KUHLMAYER, R.; ROKITANSKY, O. - Das Magenstumpfkarzinom als Spatproblem der Ulkusschirurgie. *Langenbecks Arch. Chir.*, **278**: 361, 1954.
- LABATE, C.; DOMENICONI, R. - Carcinoma Primitivo del Moncone Gastrico Dopo Resezione per Ulcera Peptica. *Min. Chir.*, **30**: 143-8, 1975.
- LANGHANS, P.; HEGER, R.A.; HOHENSTEIN, J.; BUNTE, H. - Gastric Stump Carcinoma. New Aspects Deduced from Experimental Results. *Scand. J. Gastroent.*, **16** (Suppl.) 67: 161-4, 1981.
- LAUREN, P. - The two Histological Main Types of Gastric Carcinoma: Diffuse and so-called Intestinal-type Carcinoma. An Attempt at a Histoclinical Classification. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **64**: 31-49, 1965.
- LAWSON, H.H. - The Effect of the Duodenal Contents on the Gastric Mucosa under Experimental Conditions. *S.Afr. J. Surg.*, **3**: 79-83, 1965.
- LAWSON, H.H. - The Production of Chronic Gastritis under Experimental Conditions. *Scand. J. Gastroenterol.*, **16**(Suppl.67): 91-8, 1981.
- LIJINSKY, W.; TAYLOR, H.W. - Relative Carcinogenic Effectiveness of Derivatives of Nitrosodiethylamine in Rats. *Cancer Res.*, **38**: 2391-4, 1978.
- LIJINSKY, W. - Induction of Tumours in Rats by Feeding Nitrosable Amines Together with Sodium Nitrite. *Fd. Chem. Toxic.*, **22**(9): 715-20, 1984.
- LIJINSKY, W. - Structure-activity Relations in Carcinogenesis by N-Nitroso Compounds. *Cancer Met. Rev.*, **6**: 301-56, 1987.
- LOBELLO, R.; D'ARMIENTO, M. - Il Cancro del Moncone Gastrico in Pazienti Operati di Resezione Duodeno-gastrica. *Min. Chir.*, **33**: 1163-70, 1978.
- LOGAN, R.F.A.; LANGMAN, M.J.S.- Screening for Gastric Cancer after Gastric Surgery. *Lancet*, **1**: 667-9, 1983.
- LUNDEGARDH, G.; ADAMI, H.D.; HELMICK, C.; ZACK, M.; MEIRIK, O. - Stomach Cancer after Partial Gastrectomy for Benign Ulcer Disease. *N. Engl. J. Med.*, **319**: 195-200, 1988.

- LYGIDAKIS, N.J. - Histologic Changes after Elective Surgery for Duodenal Ulcer. *Acta. Chir. Scand.*, 152: 139-44, 1986.
- 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.*, 20: 25-33, 1982.
- MAGEE, P.N.; BARNES, J.M.- The Production of Malignant Primary Hepatic Tumours in Rat Feeding Dimethylnitrosamine. *Brit. J. Cancer*, 10: 114-22, 1956.
- MALAFAIA, O.; ARTIGAS, G.V.; BRENNER, S.; MARCHESINI, J.B.; SOUZA, F.J. - Cancer do Coto Gástrico. *Rev. Ass. Med. Bras.*, 28(9-10): 229-31, 1982.
- MASON, R.C.; FILIPE, M.I. - The Aetiology of Gastric Stump Carcinoma in the Rat. *Scand. J. Gastroenterol.*, 25: 961-965, 1990.
- MASON, R.C.; TAYLOR, P.R.; FILIPE, M.I.; MCCOLL, I. - Pancreaticoduodenal Secretions and the Genesis of Gastric Stump Carcinoma in the Rat. *GUT*, 29: 830-4, 1988.
- MATSUKURA, N.; KAWACHI, T.; SASAJIMA, K.; SANO, T.; SUGIMURA, T.; HIROTA, I. - Induction of Intestinal Metaplasia in the Stomach of Rats by N-methyl-N⁷-nitro-N-nitrosoguanidine. *J. Natl. Cancer Inst.*, 61: 141-4, 1978.
- MEISTER, H.; SCHLAG, P.; WEBER, E.; BOCKLER, R.; MERKLE, P. - Frequency of Cancerous and Precancerous Epithelial Lesions in the Stomach in Different Models for Enterogastric Reflux. *Scand. J. Gastroenterol.*, 16(Suppl. 67): 165-8, 1981.
- MILLER, F.P. - Os Fertilizantes e o Meio Ambiente. In: *Manual de Fertilizantes*. Ed. CEFER - Centro de Estudos de Fertilizantes, Universidade de São Paulo - São Paulo, 1980. p.25-51.
- MILTON-THOMPSON, G.J.; LIGHTFOOT, N.F.; AHMET, Z.; HUNT, R.H.; BARNARD, J.; BAVIN, P.M.G.; BRIMBLECOMBE, R.W.; DARKIN, D.W.; MOORE, P.J.; VINEY, N. - Intra-gastric Acidity, Bacteria, Nitrite and N-nitroso Compounds Before, During and after Cimetidine Treatment. *Lancet*, 1: 1091-5, 1982.
- MING, S.C.; GOLDMAN, H.; FREIMAN, D.G. - Intestinal Metaplasia and Histogenesis of Carcinoma in Human Stomach. Light and Electron Microscopic Study. *Cancer*, 20: 1418-29, 1967.

- MIRAS ESTACIO, M.; SERRANO SANCHEZ, P.A.; PEREZ-BEDMAR PELAEZ, J.A. - Carcinoma del Munon Gastrico (Studio de 14 Casos). *Rev. Esp. Enf. Ap. Digest.*, **71**: 197-200, 1987.
- MIRVISH, S.S.; NAGEL, D.L.; SAMS, J. - Methyl and Ethylnitrosocyanamide. Some Properties and Reactions. *J. Org. Chem.*, **38**(7): 1325-9, 1973.
- MIRVISH, S.S.; BULAY, O.; RUNGE, R.G.; PATIL, K.- Study of the Carcinogenicity of Large Doses of Dimethylnitrosamine, N-Nitroso-L-Proline, and Sodium Nitrite Administered in Drinking Water to Rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **64**: 1435-42, 1980.
- MIRVISH, S.S. - The Etiology of Gastric Cancer: Intra gastric Nitrosamide Formation and Others Theories. *J. Natl. Cancer Inst.*, **71**: 629-47, 1983.
- MOLLER, H.; LINDVIG, K; KLEFTER, R.; MOSBECH, J.; JENSE, O.M. - Cancer Occurrence in a Cohort of Patients Treated with Cimetidine. *GUT*, **30**: 1558-62, 1989.
- MOLLER, H.; TOFTGAARD, C. - Cancer Occurrence in a Cohort of Patients Surgically Treated for Peptic Ulcer. *GUT*, **32**: 740-4, 1991.
- MOOLGAVKAR, S.H.; KNUDSON, A.G.Jr. - Mutation and Cancer: A Model for Human Carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**: 1052-67, 1981.
- MORGENSTERN, L. - Vagotomy, Gastroenterostomy and Experimental Cancer. *Arch. Surg.*, **96**: 920-3, 1968.
- MORGENSTERN, L.; YAMAKAWA, T.; SELTZER, D. - Carcinoma of Gastric Stump. *Am. J. Surg.*, **125**: 29-38, 1973.
- MORSON, B.C. - Carcinoma Arising from Areas of Intestinal Metaplasia in the Gastric Mucosa. *Brit. J. Cancer*, **9**: 377-85, 1955.
- MOSIMAN, F.; BURRI, B.; DISERENS, H.; FONTOLLIET, C.; LOUP, P.; MOSIMAN, R. - Enterogastric Reflux: Experimental and Clinical Study. *Scand. J. Gastroenterol.*, **16**(Suppl. 67): 149-52, 1981.
- MUELLER, R.L.; HAGEL, H.J.; WILD, H.; RUPPIN, H.; DOMSCHKE, W. - Nitrate and Nitrite in Normal Gastric Juice. *Oncology*, **43**: 50-3, 1986.

- MUSCROFT, T.J.; DEANE, S.A.; YOUNGS, D.; BURDON, D.W.; KEIGHLEY, M.R.B. - The Microflora of the Postoperative Stomach. *Brit. J. Surg.*, **68**: 560-64, 1981.
- NAGAYO, T.; ITO, M.; YOKOYAMA, H. - Early Phases of Human Gastric Cancer: Morphological Study. *Gann*, **56**: 101-20, 1965.
- NAGAYO, T. - Histology and Histogenesis of Early Gastric Carcinomas with Flat Mucosal Elevations. *Acta. Pathol. Jap.*, **24**: 249-53, 1974.
- NAGAYO, T.- Microscopical Cancer of the Stomach: a Study on Histogenesis of Gastric Carcinoma. *Int. J. Cancer*, **16**: 52-60, 1975.
- NAKAHARA, K. - Special Features of Intestinal Metaplasia and its Relation to Early Gastric Carcinoma in Man: Observation by a Method in which Leucine Aminopeptidase Activity is Used. *J. Natl. Cancer Inst.*, **61**: 693-702, 1978.
- NAKAMURA, K.; SUGANO, H.; TAKAGI, K. - Carcinoma of the Stomach in Incipient Phase: its Histogenesis and Histological Appearances. *Gann*, **59**: 251-8, 1968.
- NICHOLLS, J.C. - Stump Cancer Following Gastric Surgery. *World J. Surg.*, **3**: 731-6, 1979.
- NISHIDOI, H.; KOGA, S.; KAIBARA, N. - Possible Role of Duodenogastric Reflux on the Development of Remnant Gastric Carcinoma Induced by MNNG in Rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **72**: 1431-5, 1984.
- OEHLERT, W.; KELLER, P.; HENKE, M. - Die Dysplasien der Magenschleimhaut (das Problem ihrer Klinischen Bedeutung). *Dtsch. Med. Wschr.*, **100**: 1950-2, 1975.
- OFFERHAUS, G.J.A.; TERSMETTE, A.C.; HUIBREGTSE, K.; STADT, J.V.; TERSMETTE, K.W.F.; STJNEN, T.H.; HOEDEMAEKER, P. J.; VANDENBROUCKE, J.P.; TYTGAT, G.N.J. - Mortality Caused by Stomach Cancer after Remote Partial Gastrectomy for Benign Conditions: 40 Years of Follow up of an Amsterdam Cohort of 2633 Postgastrectomy Patients. *GUT*, **29**: 1588-90, 1988.
- OFFERHAUS, G.J.A.; STADT, J.V.; HUIBREGTSE, K.; TERSMETT, A.C.; TYTGAT, G.N.J.- The Mucosa of the Gastric Remnant Harboring Malignancy. Histologic Findings in the Biopsy Specimens of 504 Asymptomatic Patients 15 to 46 Years after Partial Gastrectomy with Emphasis on Nonmalignant Lesions. *Cancer*, **64**(3): 698-703, 1989.

- OHGARKI, H.; KAWACHI, T.; MATSUKURA, N.; MORINO, K.; MIYAMOTO, M.; SUGIMURA, T. - Genetic Control of Susceptibility of Rats to Gastric Carcinoma. *Cancer Res.*, **43**: 3663-9, 1983.
- ORRINGER, D. - Carcinoma of the Stomach Following Surgery for Chronic Duodenal Ulcer. *Surgery*, **28**: 680-3, 1950.
- OVASKA, J.T.; HAVIA, T.V.; KUJARI, H.P. - Retrospective Analysis of Gastric Stump Carcinoma Patients Treated During 1946-1981. *Acta Chir. Scand.*, **152**: 199-204, 1986a.
- OVASKA, J.T.; EKFORSS, T.O.; HAVIA, T.V.; KUJARI, H.P. - Endoscopic Follow-up after Resection for Gastric or Duodenal Ulcer. *Acta Chir. Scand.*, **152**: 289-95, 1986b.
- PARSONNET, J.; VANDERSTEEN, D.; GOATES, J.; SIBLEY, R.K.; PRITIKIN, J.; CHANG, Y. - Helicobacter pylori Infection in Intestinal-and Diffuse-Type Gastric Adenocarcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.*, **83**(9): 640-3, 1991.
- PEITSCH, W.; BECKER, H.D. - Was ist Gesichert in der Pathogenese und Häufigkeit de Primären Carcinoms im Operierten Magen? *Chirurg.*, **50**: 33-8, 1979.
- PERACCHIA, A.; PANTANO, S.; PIROZZI, C.; SGOBBA, G. - Il Cancro del Moncone Gastrico nei Resecati per Ulcera. *Min. Chir.*, **31**: 1125-32, 1976.
- PEREZ, D.; NARAYANAN, N.C.; RUSSEL, J.C.; BECKER, D.R. - Gastric Carcinoma after Peptic Ulcer Surgery. *Am. Surg.*, **50**: 538-40, 1984.
- POINTNER, R.; FOLTIN, E.; KONIGSRAINER, A.; BODNER, E. - Stump Carcinoma after BILLROTH I Resections. *Lancet*, **1**: 533, 1987.
- POINTNER, R.; SCHWAB, G.; KONGSRAINER, A.; SCHMID, K.W. - Early Cancer of the Gastric Remnant. *GUT*, **29**: 298-301, 1988.
- POINTNER, R.; SCHWAB, G.; KONIGSRAINER, A.; SCHMID, K.W. - Gastric Stump Cancer: Etiopathological and Clinical Aspects. *Endoscopy*, **21**: 115-9, 1989.
- PREUSSMANN, R. - Nitrite und Nitrate in der Nahrung und im Wasser. *Biblhca. Nutr. Dieta.*, **41**: 66-75, 1988.

- PRINZ, H.- Über Krebsbildung im Gastroenterostomierung und deren Bedeutung für die Lehre von der Krebsentstehung im Magem. *Arch. Klin. Chir.*, 191: 140-3, 1938.
- PRZYKLENK, B.;BAUERNFEIND, J.; BORNSCHEIN, W.; EMMINGER, G; HEILMANN, K.; SCHWEIGHART, S. - The Role of *Campilobacter (Helicobacter) pylori* in Disorders of the Gastrointestinal Tract. *Infection*, 18(1):3-7, 1990.
- RAUWERDA, J.A.; DEN OTTER, G. - Surgical Treatment of Gastric Stump Carcinoma. *Neth. J. Surg.*, 32: 97-101, 1980.
- REED, P.I. - The Role of Nitrosamines in Cancer Formation. *Biblitca. Nutr. Dieta (Basel)*, 37: 130-8, 1986.
- RITCHIE, W.P. - Role of Bile Acid Reflux in Acute Hemorrhagic Gastritis. *World J. Surg.*, 5: 189, 1981.
- ROSENBERG, D.; FARIA, P.A.J.; CHACON, J.P.; VIANNA, F.D.C.; SARAIVA, J.A.M. - Carcinoma Desenvolvido em Estômago Prèviamente Operado por Lesão Benigna. *Rev. Paul. Med.*, 69: 159-61, 1966.
- ROSS, A.H.M.; SMITH, M.A.; ANDERSON, J.R.; SMALL, W.P. - Late Mortality after Surgery for Peptic Ulcer. *N. Engl. J. Med.*, 307: 519 - 22, 1982.
- ROUX, G. - De la Gastroenterostomie. *Rev. Gynecol.*, 1: 67, 1897.
- ROWETT, H.G.Q. - **Dissection Guide**. III. *The Rat*. Holt, Rinehart and Winston, New York, 1957. p.1-64.
- RUDEL, W.S.; AXON, A.T.R.; FINDLAY, J.M.; BARTHOLOMEW, B.A.; HILL, M.J. - Effect of Cimetidine on the Gastric Bacterial Flora. *Lancet*, 1: 672-4, 1980.
- RUMPF, P.; SCHACHT, V.; PALOMBA, P.; KREMER, K.; SCHMITZ, H.; BORCHARD, F. - Chenish Induzierte Karzinogenese des Rattenmagens Inach Vagotomie and Resektion. *Z. Gastroenterol.*, 16: 85-94, 1978.
- SAEGESSER, F.; JAMES, D. - Cancer of the Gastric Stump after Partial Gastrectomy (BILLROTH II Principle) for Ulcer. *Cancer*, 29: 1150 - 9, 1972.

- SAITO, T.; INOKUCHI, K.; TAKAYAMA, S.; SUGIMURA, T. - Sequential Morphological Changes in N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine Carcinogenesis in the Glandular Stomach of Rats. *J. Natl. Cancer Inst.*, **44**: 769-83, 1970.
- SALMON, R.J.; DESCHENER, E.E.; OKAMURA, T.; De COSSE, J.J.; SHERLOCK, P. - Cancer Induction after Pyloroplasty in Rats. Treatment with MNNG. *Arch. Surg.*, **117**: 768-71, 1982
- SALMON, R.J.; MERLE, S.; ZAFRANI, B.; DE COSSE, J.J.; SHERLOCK, P.; DESCHENER, E.E. - Gastric Carcinogenesis Induced by N-methyl-nitro-N-nitrosoguanidine: Role of Gastrectomy and Duodenal Reflux. *Jpn. J. Cancer Res.*, **76**: 167-72, 1985.
- SCHAKE, W.; NOMURA, K. - Histogenesis of Carcinoma in the Glandular Stomach of the Rat after BI Resection. *Curr. Top. Pathol.*, **67**: 1-6, 1979.
- SCHLAG, P.; ULRICH, H.; MERKLE, P. ; BOCKLER, R.; PETER, M.; HERFARTH, C.H. - Are Nitrite and N-nitroso Compounds in Gastric Juice Risk Factors for Carcinoma in the Operated Stomach ? *Lancet*, **1**: 727-9, 1980.
- SCHLAG, P.; BOCKLER, R.; PETER, M.; HERFARTH, C.H. - Nitrite and N-nitroso Compounds in the Operated Stomach. *Scand. J. Gastroenterol.*, **16**(Suppl. 67): 63-9, 1981.
- SCHNAPKA, G.; HOFSTAEDTER, F.; SCHWAMBERGER, K.; REISSIGL, H.- Gastric Stump Carcinoma Following Billroth II Resection for Peptic Ulcer Disease. Comparison with Cancer in Non-Operated Stomach. *Endoscopy*, **16**(5): 171-4, 1984.
- SCHRODER, V.H.; HUNICKE, H. - Ergebnisse und Erfahrungen Mit der Restgastrektomie. *Zbl. Chirurgie*, **106**: 718-23, 1981.
- SCHRUMPF, E.; SERCK-HANSEN, A.; STAADAS, J.; AUNE, S.; MYREN, J.; OSNES, M. - Mucosae Changes in the Gastric Stump 20-25 Years after Partial Gastrectomy. *Lancet*, **2**: 467-9, 1977.
- SCHWEINSBERG, F.; BURKLE, V. - Nitrite: A Co-Carcinogen ? *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **109**: 200-2, 1985.
- SIURALA, M.; LETHOLA, J.; IKAMAKI, T. - Atrophic Gastritis and its Sequela. *Scand. J. Gastroenterol.*, **9**: 441-6, 1974.

- SONS, H.U.; BORCHARD, F. - Gastric Carcinoma after Surgical Treatment for Benign Ulcer Disease: Some Pathologic -Anatomic Aspects. *Int. Surg.*, 72(4): 222-6, 1987.
- SPIEGELHALDER, B.; EISENBRAND, G.; PREUSSMANN, R. - Volatile Nitrosamines en food. *Oncology*, 37: 211-4, 1980.
- STALSBERG, H. - Stomach Cancer Following Gastric Surgery for Benign Condition. *Lancet*, 2: 1175-7, 1971.
- STOCKBRUGGER, R.W.; EUGENIDES, N.; BARTHOLOMEW, B.A. - Cimetidine Treatment, Intra gastric Bacterial Overgrowth and its Consequences. *Gastroenterology*, 80: 1295, 1981.
- STOKKELAND, M.; SHRUMPF, E.; HANSSSEN, S.A.; MYREN, J.; OSNES, M.; STADAAS, J. - Incidence of Malignancies of the BILLROTH II Operated Stomach. A Prospective Follow-up. *Scand. J. Gastroenterol.*, 16(Suppl. 67): 169-71, 1981.
- SUGIMURA, T.; FUJIMURA, S. - Tumor Production in Glandular Stomach of Rat by N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine. *Nature*, 216:943-8, 1967.
- SUGIMURA, T.; FUJIMURA, S.; BABA, T. - Tumor Production in the Glandular Stomach and Alimentary Tract of the Rat by N-Methyl-N-Nitro-N-Nitrosoguanidine. *Cancer Res.*, 30: 455-65, 1970.
- TANNENBAUM, S.R.; CORREA, P. - Nitrate and Gastric Cancer Risks. *Nature*, 317: 675-6, 1985.
- TATEMATSU, M.; KATSUYAMA, T.; MUTAI, M.; ASAKAWA, E.; ITO, N. - Pyloric Gland Phenotypic expression of Gastric Cancers Developing in the Rat Fundic Glandular Stomach. *Carcinogenesis*, 10(6): 1033-9, 1989.
- TATEMATSU, M.; KATSUYAMA, T.; FURIHATA, C.; FUKUSHIMA, S.; SHIRAI, T.; KATO, T.; ITO, N. - Cellular Differentiation and Histogenesis of Rat Glandular Stomach Cancer. *Jpn. J. Cancer*, 81: 760-7, 1990.
- TERJESEN, T. & ERICHSEN, H.G. - Carcinoma of the Gastric Stump after Operation for Benign Gastroduodenal Ulcer. *Acta. Chir. Scand.*, 142: 256-60, 1976.

- TIEDINK, H.G.M.; DAVIES, J.A.R.; BROEKHOVEN, L.W.; KAMP, H.J.; JONGEN, W.M.F. - Formation of Mutagenic N-nitroso Compounds in Vegetable Extrats Upon Nitrite treatment: A Comparison with the Glucosinolate Content. *Fd. Chem. Toxic.*, 26(11-12): 947-54, 1986.
- TOTTEN, J.; BURNS, H.J.G.; KAY, A.W. - Time of Onset of Carcinoma of the Stomach Following Surgical Treatment of Duodenal Ulcer. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 157: 431-3, 1983.
- TUYNIS, A.J.; KAAKS, R.; HAELTERMAN, M.; RIBOLI, E. - Diet and Gastric Cancer. A Case-Control Study in Belgium. *Int. J. Cancer*, 51: 1-6, 1992.
- VILCHEZ, C.A.; ECHAVE-LLHANOS, J.M. - Action of Bilateral Vagotomy on the Experimental Neoplastic Lesions of Glandular Stomach. *Naturwissenschaften*, 51: 142-4, 1964.
- VISTE, A.; BJORNSTAD, E.; OPHEIN, P.; SKARSTEIN, A.; THUNOLD, J.; HARTVEIT, F.; EIDE, G.E.; EIDE, T.J.; SOREIDE, O. - Risk of Carcinoma Following Gastric Operations for Benign Disease. A Historical Cohort Study of 3470 Patients. *Lancet*, 2: 502-5, 1986.
- WATT, P.C.H.; SLOAN, J.M.; DONALDSON, J.D.; PATTERSON, C.C.; KENNEDY, T.L. - Relationship Between Histology and Gastric Juice pH and Nitrite in the Stomach after Operation for Duodenal Ulcer. *GUT*, 25: 246-52, 1984a.
- WATT, P.C.H.; PATTERSON, C.C.; KENNEDY, T.L. - Late Mortality after Vagotomy and Drainage for Duodenal Ulcer. *Brit. Med. J.*, 288: 1335-8, 1984b.
- WAYNFORTH, H.B. - *Experimental and Surgical Technique in the Rat*. Academic Press, London, 1980. p.1-263.
- WEISBURGER, J.H.; MARQUARDT, H.; HIROTA, N.; MORI, H.; WILLIAMS, G.M. - Induction of Cancer of the Glandular Stomach in Rats by an Extrat of Nitrite-treated Fish. *J. Natl. Cancer Inst.*, 64: 163-7, 1980.
- YAMAFUJI, K. - Experimental Study on Carcinogenesis in the Vagotomized Stomach. *Nippon Geka Gakkai Zasshi.*, 92 (6): 652-63, 1991.
- ZALDIVAR, R.; ROBINSON, H. - Epidemiological Investigation on Stomach Cancer Mortality in Chileans: Association with Nitrate Fertilizer. *Z. Krebsforsch.*, 80: 289-95, 1973.

ZAR, J.L. - *BIOSTATISTICAL ANALYSIS*. Prentice-Hall International, 2^o ed., London, 1984. p. 1-718.

(*)

ESTRUTURA E APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÕES E TESES.

Editado pelo Serviço de Biblioteca e Documentação da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
São Paulo. p. 1-50

FERREIRA, A.B.H. - **DICIONÁRIO AURÉLIO ESCOLAR DA LÍNGUA PORTUGUESA**. Ed. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 1^a ed., 13^a impres., 1988.

X

APÊNDICE

Tabela 21: Comparação dos pesos médios dos animais por tipo solução, no início e fim da pesquisa.

Soluções	Médias	D.P.	F.	p	Grupos(*) Homogêneos
INÍCIO DA PESQUISA:					
Água	357,4	21,5	18,2	<0,0001	B,C
Nit/Nitrato	317,6	18,3			A (**)
N-nitroso	327,2	41,9			
FIM DA PESQUISA:					
Água	430,5	45,6	<0,0	0,9647	B,C,A
Nit/Nitrato	428,1	51,7			
N-nitroso	428,2	24,4			

F : Teste de Análise de Variância

D.P.: Desvio Padrão

(*) : Teste de Duncan

(**): Este grupo mostrou discreta diferença de homogeneidade comparado aos demais

Tabela 22: Comparação dos pesos médios dos animais por tipo procedimento e tipo de solução, no início e no fim da pesquisa.

Cirurgias	Soluções	Início		Fim		p(*)
		Médias	D.P.	Médias	D.P.	
A	água	329,8	10,4	387,9	30,5	<0,0001
	nit/nit	330,9	10,4	492,3	28,9	<0,0001
	N-nit	319,9	11,6	429,2	26,8	<0,0001
		326,9	11,5	436,5	51,8	<0,0001
B	água	380,2	11,9	493,1	18,8	<0,0001
	nit/nit	329,3	12,7	376,0	14,6	<0,0001
	N-nit	379,3	16,5	427,6	15,6	<0,0001
		363,0	27,6	432,2	51,3	<0,0001
C	água	359,4	16,6	437,8	18,4	<0,0001
	nit/nit	300,4	15,9	391,2	22,7	<0,0001
	N-nit	339,9	10,6	451,3	17,0	<0,0001
		333,3	28,7	426,8	32,3	<0,0001
D	água	360,0	6,7	403,1	10,1	<0,0001
	nit/nit	309,6	13,4	452,8	15,2	<0,0001
	N-nit	269,9	13,0	404,9	12,0	<0,0001
		313,1	39,2	420,3	26,4	<0,0001

D.P. : Desvio Padrão

(*) : Teste de Student (T)

Soluções : Água

Nit/Nit - Nitrito/Nitrato

N-nit - Composto N-nitroso

Cirurgias:

A - Gastrotomia

B - Gastroenteroanastomose

C - Gastrectomia a BII

D - Gastrectomia a Y-ROUX

Tabela 23 : Comparação dos pesos médios dos animais por tipo de solução e tipo de procedimento realizado, no fim da pesquisa.

Soluções		Cirurgias	Médias	D.P.	F	p	Grupos(*) Homogêneos
Água	A1		387,9	30,5	45,6	<0,0001	A,D C B
	B1		493,1	18,8			
	C1		437,8	18,4			
	D1		403,1	10,1			
Nitrito/ Nittrato	A2		492,3	28,9	58,9	<0,0001	B,C D A
	B2		376,0	14,6			
	C2		391,2	22,7			
	D2		452,8	15,2			
N-nitroso	A3		429,2	26,8	9,3	<0,0001	D B,A C
	B3		427,6	15,6			
	C3		451,3	17,0			
	D3		404,9	12			

F : Teste de Análise de Variância

D.P.: Desvio padrão

(*) : Teste de Duncan

Cirurgias: A - Gastrotomia
 B - Gastroenteroanastomose
 C - Gastrectomia a BII
 D - Gastrectomia a Y-ROUX

Tabela 24: Comparação dos pesos médios dos animais por tipo de procedimento e tipo de solução no fim da pesquisa.

Cirurgias	Soluções	médias	D.P.	F	p	Grupos(*) Homogêneos
A	água	387,9	30,5	30,1	<0,0001	A
	nit/nit	492,3	28,9			C
	N-nit	429,2	26,8			B
B	água	493,1	18,8	114,7	<0,0001	B
	nit/nit	376,0	14,6			C
	N-nit	427,6	15,6			A
C	água	437,8	18,4	23,5	<0,0001	B
	nit/nit	391,2	22,7			A,C
	N-nit	451,3	17,0			
D	água	403,1	10,1	45,0	<0,0001	A,C
	nit/nit	452,8	15,2			B
	N-nit	404,9	12,0			

F : Teste de Análise de Variância

D.P.: Desvio Padrão

(*) : Teste de Duncan

Soluções : Água
 Nit/nit - Nitrito/Nitrato
 N-nit - Composto N-nitroso

Cirurgias: A - Gastrotomia
 B - Gastroenteroanastomose
 C - Gastrectomia a BII
 D - Gastrectomia a Y-ROUX

Tabela 25:- Comparação de valores médios ingeridos segundo tipo de procedimento realizado.

Cirurgias		Média	D.P.	p	Grupos(*) Homogêneos
Va	A1	31,41	0,36	0,0001	A1, D1,B1,C1
	B1	39,46	1,41		
	C1	41,77	1,41		
	D1	38,20	1,99		
Vt	A1	0,92	0,04	0,0173	A1,D1 D1,B1,C1
	B1	1,15	0,07		
	C1	1,20	0,06		
	D1	1,07	0,07		
Vd(1)	A2	38,50	1,13	<0,0001	B2 A2,D2, D2,C2
	B2	30,03	1,20		
	C2	44,31	1,07		
	D2	42,56	2,43		
Qd(1)	A2	22,49	1,67	0,0079	B2, C2,A2,D2
	B2	15,53	0,82		
	C2	21,84	1,13		
	D2	23,48	2,45		
Qt(1)	A2	0,66	0,06	0,0297	B2, C2,A2,D2
	B2	0,44	0,05		
	C2	0,62	0,04		
	D2	0,67	0,20		
Vd(2)	A3	37,95	1,69	0,0257	A3,D3,C3, A3,C3,B3
	B3	44,75	0,92		
	C3	41,60	2,12		
	D3	40,25	0,88		
Qd(2)	A3	21,38	1,95	0,0301	D3,A3,C3 A3,C3,B3
	B3	26,40	1,04		
	C3	24,01	2,15		
	D3	19,16	1,41		

(continua)

Qt(2)	A3	0,65	0,07	0,7383	A3,D3,C3,B3
	B3	0,74	0,06		
	C3	0,68	0,06		
	D3	0,67	0,05		
Nd	A3	2,42	0,13	0,1987	A3,D3,C3,B3
	B3	2,88	0,14		
	C3	2,67	0,18		
	D3	2,58	0,13		
Nt	A3	73,55	3,35	0,0002	A3,C3, B3,D3
	B3	88,31	1,65		
	C3	75,01	3,80		
	D3	89,82	1,99		

Teste de Análise de Variância

D.P. : Desvio Padrão

(*) : Teste de Duncan

Cirurgias : A - Gastrotomia
 B - Gastroenteroanastomose
 C - Gastrectomia a BII
 D - Gastrectomia a Y de ROUX

Soluções: A1/B1/C1/D1/ - Água
 A2/B2/C2/D2 - Nitrito + Nitrato
 A3/B3/C3/D3 - N-nitroso

Tabela 26:- Comparação dos valores médios de Va, Vd(1) e Vd(2) ingeridos nos grupos:

Cirurgias	médias	p	Grupos (*) Homogêneos
A1	31,41	0,0006	A1
A2	38,50		A3,A2
A3	37,95		
B1	39,46	<0,0001	B2
B2	30,03		B1
B3	44,75		B3
C1	41,78	0,4176	C3,C1,C2
C2	44,31		
C3	41,60		
D1	38,20	0,2823	D1,D3,D2
D2	42,56		
D3	40,25		

Teste de Análise de Variância
(*) Teste de Duncan

Tabela 27: Comparação dos valores médios de Qd(1) e Qd(2) ingeridos:

Cirurgias	médias	p(*)
A2	22,49	0,671
A3	21,38	
B2	15,53	<0,001
B3	26,40	
C2	21,84	0,386
C3	24,01	
D2	23,48	0,150
D3	19,16	

(*) Teste de Student

Tabela 28: Comparação dos valores médios de Qt(1) e Qt(2) ingeridos:

Cirurgias	médias	p(*)
A2	0,6588	0,902
A3	0,6475	
B2	0,4400	0,002
B3	0,7388	
C2	0,6200	0,468
C3	0,6762	
D2	0,6650	0,989
D3	0,6663	

(*) Teste de Student

Tabela 29: Porcentagens dos animais segundo os achados macroscópicos encontrados, conforme as soluções ingeridas:

Achados	Água	Nit/Nit	N-nit
Normal	69,5%	66,7%	75,0%
Tumores	19,4%	22,2%	25,0%
Úlceras	11,4%	19,4%	-----
Total	36	36	36

Teste do Qui-Quadrado:

$$X^2 = 0,6 \quad p = 0,7328 \text{ (Normal)}$$

$$X^2 = 0,3 \quad p = 0,8515 \text{ (Tumores)}$$

$$X^2 = 7,5 \quad p = 0,0236 \text{ (Úlceras) - Significante (} p < 0,05 \text{) mas não em relação ao composto N-nitroso.}$$

Tabela 30: Porcentagens dos animais segundo os achados macroscópicos encontrados, conforme os procedimentos realizados:

Achados	Gastrotomia (A)	Gastroentero (B)	BII (C)	Y de ROUX (D)
Normal	96%	52%	48%	85%
Tumores	4%	33%	37%	15%
Úlceras	---	22%	15%	4%
Total	27	27	27	27

Teste do Qui-Quadrado:

$$X^2 = 22,4 \quad p < 0,0001 \text{ (Normal) - } p < 0,05 \text{ - Significante}$$

$$X^2 = 11,6 \quad p = 0,0090 \text{ (Tumores) - } p < 0,05 \text{ - Significante}$$

$$X^2 = 6,5 \quad P = 0,0109 \text{ (Úlceras) - } p < 0,05 \text{ - Significante para os grupos B+C/A+D}$$

obs.: A associação Tumor + Úlcera tem quantidade muito pequena para comparações e para efeito de cálculo

Tabela 31: Distribuição dos animais conforme achados histopatológicos e soluções ingeridas.

Achados	Água		Nitrito/nitrato		N-nitroso	
	n	%	n	%	n	%
Nl.	2	5,6	-	--	-	--
G.C.	17	47,2	9	25,0	9	25,0
Met.	4	11,1	3	8,3	1	2,8
H.G.C.	12	33,3	15	41,7	13	26,1
Disp.	1	2,8	7	19,4	9	25,0
Ca.	-	--	2	5,6	4	11,1
Total	36	100,0	36	100,0	36	100,0

Teste do Qui-Quadrado:

$X^2 = 11,2$ $p = 0,0037$ (Nl.-Met./H.G.C.-Ca.) - Significante
 (p < 0,05)

$X^2 = 5,4$ $p = 0,0669$ (G.C.) - Não significativa (p > 0,05)
 (significante a nível de 7%)

$X^2 = 0,6$ $p = 0,7573$ (H.G.C.) - Não significativa
 (p > 0,05)

$X^2 = 7,3$ $p = 0,0265$ (Disp.) - Significante (p < 0,05)

$X^2 = 1,1$ $p = 0,5910$ (Nl-Met./H.G.C./Disp.-Ca.) -
 Não significativa (p > 0,05)

Tabela 32: Distribuição dos animais conforme os achados histopatológicos e procedimentos realizados.

Achados	A		B		C		D	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Nl.	2	7,4	-	--	-	--	-	--
G.C.	18	66,7	3	11,1	5	18,5	9	33,3
Met.	1	3,7	-	--	3	11,1	4	14,8
H.G.C.	4	14,8	15	55,6	13	48,1	9	29,6
Disp.	2	7,4	6	22,2	4	14,8	5	18,5
Ca.	-	--	3	11,1	2	7,4	1	3,7
Total	27	100,0	27	100,0	27	100,0	27	100,0

 Teste do Qui-Quadrado:

$X^2 = 26,4$ $p < 0,0001$ (Nl-Met/H.G.C.-Ca.) - Significante

$X^2 = 22,1$ $p < 0,0001$ (G.C.) - Significante

$X^2 = 10,9$ $p = 0,0123$ (H.G.C.) - Significante comparando
 Gastrot-Gastroentero/
 Gast.BII-Gast.Y-ROUX

$X^2 = 4,3$ $p = 0,0546$ (Nl.-Met./H.G.C./Disp.-Ca.)
 comparando Gastroentero, Gast.BII e
 Gast.Y-ROUX - Não significante
 ($p > 0,05$)
 (Significante a nível de 6%)

- Cirurgias: A - Gastrotomia
 B - Gastroenteroanastomose
 C - Gastrectomia a BII
 D - Gastrectomia a Y-ROUX

Tabela 33

COMPOSIÇÃO BÁSICA DA RAÇÃO*

Milho	Farelo de Arroz Cru
Farelo de Trigo	Carbonato de Cálcio
Farelo de Soja	Fosfato Bicálcico
Farinha de Carne	Sal

ENRIQUECIMENTO POR QUILOGRAMA DE PRODUTO

Vitamina A - 20.000 UI	Piridoxina - 6 mg
Vitamina D3 - 6.600 UI	Biotina - 0,1 mg
Vitamina E - 30 UI	Ácido Fólico - 0,5 mg
Vitamina K - 6 mg	Manganês - 50 mg
Vitamina B12 - 10 mcg	Iodo - 2 mg
Vitamina B2 - 8 mg	Ferro - 65 mg
Pantotenato de Cálcio - 24 mg	Zinco - 35 mg
Niacina - 95 mg	Cobre - 26 mg
Tiamina - 4 mg	Antioxidante - 100 mg
Colina - 2.000 mg	

NÍVEIS DE GARANTIA

Umidade - 13% (máximo)
Proteínas - 23% (máximo)
Extrato Etéreo - 2,5% (máximo)
Matéria Fibrosa - 8,0% (máximo)
Matéria Mineral - 8,0% (máximo)
Cálcio - 1,8% (máximo)
Fósforo - 0,8% (mínimo)

* NUTRIMENTOS PURINA LTDA
