

Modelo experimental de funduplicatura gastroesofágica em ratos. Estudo manométrico e histológico do esôfago¹

Sérgio Luiz Rocha², Zacarias Alves de Souza Filho³, Francielle Fátima Borges⁴, Giselle Stroparo⁴, Michele Mamprim Grippa⁴, Patrícia Carla Zanellato Gonçalves⁴

Rocha SL, Souza Filho ZA, Borges FF, Stroparo G, Grippa MM, Gonçalves PCZ. Modelo experimental de funduplicatura gastroesofágica em ratos: estudo manométrico e histológico do esôfago. *Acta Cir Bras* [serial online] 2004 Mar-Abr;19(2). Disponível em URL: <http://www.scielo.br/acb>.

RESUMO – Objetivo: O presente estudo objetiva avaliar alguns aspectos decorrentes da funduplicatura em ratos, com técnica de Nissen, através da análise histológica do esôfago distal e estudo manométrico do esfíncter esofágico inferior (EEI), bem como da avaliação da variação do peso dos ratos submetidos ao procedimento, com diferentes dias de evolução. **Métodos:** Utilizaram-se 70 ratos Wistar, machos, com idade entre 100 e 130 dias e peso entre 250 e 300 g, divididos em dois grupos. O grupo experimento foi composto por 60 ratos, subdivididos em 6 subgrupos de acordo com o tempo de aferição manométrica pós-operatória: 02, 07, 14, 21, 28 e 40 dias, e submetido a funduplicatura com posterior análise manométrica do EEI e histológica do esôfago distal. O grupo controle foi composto pelos 10 animais restantes, submetido apenas a laparotomia com manipulação da região esôfago-gástrica, e realizaram-se as mesmas análises. **Resultados:** Evidenciou-se na análise histológica, edema estatisticamente significativo ($p=0,0000$) nos subgrupos 02 e 07 dias, acompanhado de perda de peso. Observou-se significância estatística no estudo manométrico em todos os subgrupos comparados ao controle ($p<0,0018$). A correlação edema e peso foi linear significativa e inversamente proporcional ($t=-2,577 < t_c=2,132$). Não se verificou correlação linear significativa entre manometria e peso. Estabeleceu-se correlação linear significativa e diretamente proporcional entre edema e manometria ($t=+6,085 > t_c=+2,132$). **Conclusão:** Após funduplicatura de Nissen em ratos, a pressão no EEI não retorna aos níveis do controle até o 40º pós-operatório. O edema correlacionado à perda de peso e ao aumento da pressão no EEI pode ser a principal variável relacionada à possível disfagia.

DESCRITORES - Funduplicatura. Disfagia. Edema. Manometria.

Introdução

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE), a mais freqüente das afecções esofágicas, é uma condição comum e crônica.

A maioria dos pacientes com DRGE necessita de tratamento médico durante toda a vida, e alguns deles apresentam complicações graves, como úlcera, estenose esofágica e esôfago de Barret^{1,2,3,4}.

O tratamento cirúrgico é indicado para pacientes com complicações da DRGE ou com tratamento clínico ineficaz. Atualmente, a funduplicatura gástrica é o

procedimento cirúrgico disponível mais efetivo para o tratamento da DRGE⁵. Dentre as opções cirúrgicas existentes, a técnica de Nissen representa o procedimento “padrão-ouro” no tratamento desta afecção.

Entretanto, apesar de ser bastante utilizada, a cirurgia de Nissen não é livre de complicações pós-operatórias. Dentre estas, podem ser citadas disfagia, distensão gástrica, incapacidade para eructar e vomitar, dor epigástrica e flatulência⁶.

Após a funduplicatura de Nissen, a disfagia é uma queixa freqüente, sendo mais comum durante os primeiros meses pós-

operatórios, com tendência a desaparecer no decorrer do período. Alguns estudos relatam, como possíveis causas, alterações secundárias ao edema pós-operatório na região manipulada, embora seu mecanismo não esteja definido^{7,8,9,10,11}.

O objetivo do presente estudo é avaliar as conseqüências da funduplicatura em ratos, com técnica de Nissen, através da análise histológica do esôfago distal e do estudo manométrico do esfíncter esofágico inferior, bem como da avaliação da variação do peso de ratos submetidos ao procedimento com diferentes dias de evolução.

1. Trabalho desenvolvido na Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR).
2. Prof. Adjunto da Disciplina de Anatomia Médica da PUCPR e UFPR. Prof. Adjunto da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUCPR. Doutor em Clínica Cirúrgica pela UFPR.
3. Prof. Titular de Clínica Cirúrgica do CCBS-PUCPR e da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUCPR e Disciplina de Cirurgia Geral da UFPR.
4. Alunas de Iniciação Científica da Disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da PUCPR.

Métodos

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa com Animais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – CEPA – CCBS – PUCPR.

Utilizaram-se 70 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus, Rodentia mammalia*) machos, com idade entre 100 e 130 dias e peso entre 250 e 300 gramas. Os animais permaneceram no Biotério Central da Pontifícia Universidade Católica do Paraná em caixas numeradas e padronizadas para a espécie, com número máximo de cinco ratos por caixa, sob temperatura e luminosidade naturais, recendo água potável e ração padrão comercial em regime livre.

Os animais foram divididos em 2 grupos, um grupo denominado “experimento”, composto por 60 ratos, e o outro denominado “controle”, composto por 10 ratos. Utilizou-se, para indução e manutenção anestésicas, éter etílico 97% administrado por via inalatória. Os 60 animais do grupo “experimento” foram submetidos a laparotomia mediana e fundoplicatura gastroesofágica, com técnica de Nissen, utilizando 3 pontos de polipropileno 6.0 para confecção da válvula e, a seguir, foram divididos em 6 subgrupos, de acordo com o tempo de aferição manométrica pós-operatória: 02, 07, 14, 21, 28 e 40 dias. Os 10 animais do grupo “controle” foram submetidos apenas a laparotomia e manipulação da região esôfago-gástrica e, o estudo manométrico foi realizado imediatamente após o procedimento cirúrgico.

Os ratos tiveram seus pesos aferidos até o dia pré-determinado de eutanásia conforme cada subgrupo.

A medida da pressão do esfíncter esofágico inferior foi realizada no momento posterior à eutanásia, objetivando excluir a interferência da variação de pressão intratorácica e intra-abdominal na aferição manométrica. A manometria foi feita com o transdutor de pressão de um monitor cardíaco digital multicanal (biomotor 7.0 marca Bese), adaptado a um catéter de três vias. A primeira via foi conectada a um frasco de solução salina isotônica, com gotejamento de 4ml por minuto. A segunda via foi utilizada para limpeza do sistema. A terceira via foi ligada ao transdutor de pressão, e este ao monitor.

Realizou-se cervicotomia anterior, com isolamento do esôfago e sob visibilização

direta, foi possível a introdução, via oral, do catéter com o transdutor de pressão. O fluxo contínuo de soro através do catéter permitiu verificar o aumento gradativo dos valores pressóricos até o momento de estabilização de um nível de pressão. Este foi considerado como valor máximo, correspondendo à maior pressão suportada pelo EEI após a fundoplicatura.

A peça cirúrgica contendo a fundoplicatura foi removida para estudo anatomo-patológico. O conjunto foi imerso em formaldeído 10% e os cortes histológicos foram corados com hematoxilina-eosina. O parâmetro microscópico analisado foi a presença de edema e sua quantificação. As lâminas foram analisadas através de microscopia óptica, em aumento de 40 vezes, com auxílio de lente objetiva graduada. O critério estabelecido para verificar a presença ou não de edema foi a distância da superfície do epitélio esofágico até o início da camada muscular. Foram efetuadas 30 aferições por lâmina, seguidas de cálculo da média dos valores obtidos. Esta

média foi multiplicada por 0,12 (valor pré-determinado para correção de dados quando utilizado aumento de 40 vezes) com a finalidade de conversão em micrômetros. Foram obtidos os mesmos registros nos animais do grupo controle.

O registro da variação do peso foi convertido em porcentagem para possibilitar o cálculo estatístico.

Os resultados dos estudos histológico e manométrico foram submetidos a tratamento estatístico com o teste “t” de Student e teste de Mann-Whitney. Para comparação entre variáveis diferentes foi utilizado o artifício da correlação linear. Considerou-se $p < 0,05$ para rejeição da hipótese de nulidade.

Resultados

O parâmetro edema avaliado no estudo microscópico, bem como sua quantificação nos grupos controle e experimento (subgrupos 02, 07, 14, 21, 28 e 40 dias) estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1 - Estudo microscópico. Quantificação do edema na região da fundoplicatura gastroesofágica (micrômetros).

Grupos	Tempo de aferição	Quantificação do edema
Grupo Controle		142,1 µ
Grupo Experimento	2 dias	1265,1 µ
	7 dias	641,1 µ
	14 dias	404,1 µ
	21 dias	157,5 µ
	28 dias	182,9 µ
	40 dias	173,0 µ

Grupo Controle x Grupo Experimento. Teste “t” de Student

2 dias	p = 0,0000 *
7 dias	p = 0,0000 *
14 dias	p = 0,1047
21 dias	p = 0,4731
28 dias	p = 0,1941
40 dias	p = 0,2762

* presença de diferença significativa

Foi evidenciada diferença estatisticamente significativa apenas nos subgrupos de 02 e 07 dias. Nos subgrupos a partir de 14 dias, os valores observados foram estatisticamente semelhantes. Quanto à

comparação entre os grupos experimento (subgrupo 02 e 07) e controle, foi demonstrada evidente disparidade quanto ao estudo microscópico do edema, como mostrado nas Figuras 1 e 2.

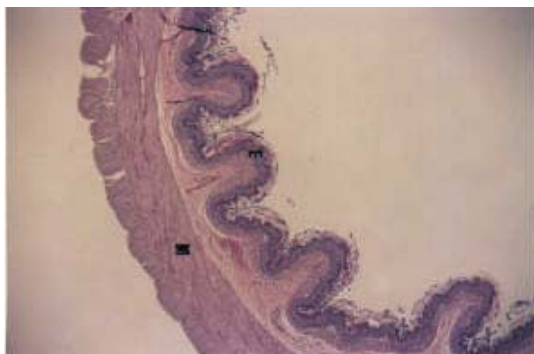


FIGURA 1 - Mucosa justaposta à muscular própria (Grupo controle – esôfago cortado transversalmente HEX40).

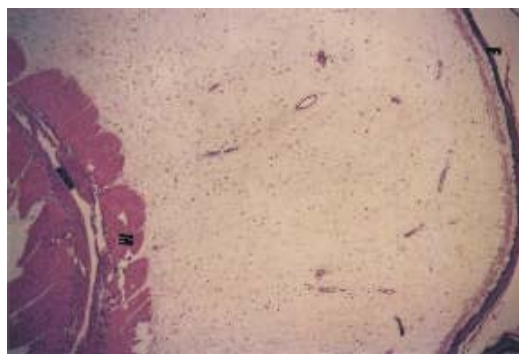


FIGURA 2 - Edema de submucosa (Subgrupo 02 dias – esôfago cortado transversalmente HEX40).

A avaliação manométrica comparativa entre os grupos controle e experimento está descrita na Tabela 2.

Como os dados obtidos não foram totalmente adequados para o uso do teste “t” de Student, foi utilizado também o teste não-paramétrico de Mann-Whitney para obtenção de resultados mais consistentes. Nos dois testes realizados foi observada diferença estatisticamente significativa em todos os subgrupos do grupo experimento, quando comparados ao controle. Estudaram-se as associações entre as variáveis analisadas, ou seja, quantificação do edema, variação do peso e manometria do esfíncter esofágico inferior. Os dados estão descritos nas Tabelas 3, 4 e 5.

Como valor $t = -2,577$ é menor que o valor $t_c = -2,132$, existe uma correlação linear

significativa entre a variação de peso e edema.

O sinal negativo indica correlação inversa, ou seja, aumentando a variável edema diminui a variável peso e vice-versa.

Como valor $t = -2,075$ é maior que o valor $t_c = -2,132$, não existe uma correlação linear significativa entre a manometria e a variação do peso. Foi observado nos subgrupos de 02 e 07 dias diminuição do peso relacionada a altos valores de pressão do esfíncter esofágico inferior.

Como valor t é maior que o valor t_c , existe uma correlação linear significativa entre a manometria e o edema. O sinal positivo indica correlação direta, ou seja, aumentando a variável edema, o mesmo acontece com a variável manometria.

Discussão

Embora a disfagia ocorra nos pacientes durante os primeiros meses após fundoplicatura gástrica pela técnica de Nissen, sua fisiopatologia não é bem definida. Possíveis causas foram relatadas, como edema pós-operatório e variações na motilidade esofágica e na região cárdica^{5,7}. Entretanto, não são descritos estudos experimentais que avaliem claramente o mecanismo da disfagia pós-fundoplicatura.

Não se encontrou associação entre os achados histológicos e as manifestações clínicas, após fundoplicatura bem sucedida em humanos¹¹. Contudo, neste experimento, em ratos, constatou-se alteração histológica – presença de edema – significativa estatisticamente nos subgrupos 02 e 07 dias ($p=0,0000$), associada a perda de peso.

No presente estudo, verificou-se aumento dos valores pressóricos no esfíncter esofágico inferior após fundoplicatura, sem retorno aos valores do grupo controle até o 40º dia pós-operatório ($p<0,0018$). Além disso, foi inferido o fator causal desta alteração manométrica: o aumento da pressão no EEI esteve correlacionado à presença e variação da amplitude do edema. Foram registrados, nos períodos pós-operatórios recentes, os maiores valores de edema associados aos máximos valores pressóricos. O seguimento pós-operatório demonstrou diminuição do edema, relacionado à diminuição dos valores manométricos, comprovando correlação linear significativa diretamente proporcional ($t=6,085 > t_c=2,132$).

Já na comparação entre variação de peso e manometria, não foi observada correlação linear significativa ($t=-2,075 > t_c=-2,132$). Nos subgrupos de 02 e 07 dias os

TABELA 2 - Estudo Manométrico. Pressão do esfíncter esofágico inferior (EEI).

Grupos	Tempo de Aferição	Pressão no EEI
Grupo Controle	0,70 mmHg	
Grupo Experimento	2 dias	10,07 mmHg
	7 dias	5,07 mmHg
	14 dias	3,30 mmHg
	21 dias	4,00 mmHg
	28 dias	3,50 mmHg
	40 dias	2,57 mmHg
Grupo Controle x Grupo Experimento.		Teste “t” de Student
Teste de Mann-Whitney		
2 dias	$p = 0,0000$ *	$p = 0,0000$ *
7 dias	$p = 0,0004$ *	$p = 0,0003$ *
14 dias	$p = 0,0005$ *	$p = 0,0016$ *
21 dias	$p = 0,0000$ *	$p = 0,0000$ *
28 dias	$p = 0,0009$ *	$p = 0,0016$ *
40 dias	$p = 0,0018$ *	$p = 0,0018$ *

* presença de diferença significativa

TABELA 3 - Correlação entre variação do peso e edema.

Grupos	Tempo de Aferição	Varição do peso	Quantificação do edema
Grupo Experimento	2 dias	87,60%	1265,1 μ
	7 dias	83,70%	641,1 μ
	14 dias	101,40%	404,1 μ
	21 dias	102,80%	157,5 μ
	28 dias	105,30%	182,9 μ
	40 dias	113,50%	173,0 μ
Coeficiente de correlação			$r = -0,790$
Teste de significância (estatística do teste)			$t = -2,577$
Valor crítico (nível de significância)			$tc = -2,132$

TABELA 4 - Correlação entre manometria e peso.

Grupos	Tempo de Aferição	Manometria	Varição do peso
Grupo Experimento	2 dias	10,07 mmHg	87,60%
	7 dias	5,07 mmHg	83,70%
	14 dias	3,30 mmHg	101,40%
	21 dias	4,00 mmHg	102,80%
	28 dias	3,50 mmHg	105,30%
	40 dias	2,57 mmHg	113,50%
Coeficiente de correlação			$r = -0,720$
Teste de significância (estatística do teste)			$t = -2,075$
Valor crítico (nível de significância)			$tc = -2,132$

TABELA 5 - Correlação entre manometria e edema.

Grupos	Tempo de Aferição	Manometria	Quantificação do edema
Grupo Experimento	2 dias	10,07 mmHg	1265,1 μ
	7 dias	5,07 mmHg	641,1 μ
	14 dias	3,30 mmHg	404,1 μ
	21 dias	4,00 mmHg	157,5 μ
	28 dias	3,50 mmHg	182,9 μ
	40 dias	2,57 mmHg	173,0 μ
Coeficiente de correlação			$r = +0,950$
Teste de significância (estatística do teste)			$t = +6,085$
Valor crítico (nível de significância)			$tc = +2,132$

maiores valores pressóricos avaliados foram acompanhados de perda de peso. Nos subgrupos de 14, 21, 28 e 40 dias, mesmo com diminuição dos valores pressóricos, sem retorno aos valores do grupo controle, houve ganho de peso. Esta comparação impossibilitou estabelecimento de correlação linear significativa, uma vez que, a partir dos 14 dias, a pressão no EEI não exerceu influência na perda de peso, devido a provável adaptação do animal aos novos padrões pressóricos.

Foi registrada correlação linear significativa inversamente proporcional entre as variáveis edema e variação de peso ($t = -2,577 < t_c = -2,132$). Os maiores valores de edema ocorreram concomitantemente com a perda de peso nos dois primeiros subgrupos. Nos demais subgrupos, a diminuição do edema foi acompanhada de ganho de peso. Isto permite inferir que a presença de edema significativo está relacionada à perda de peso.

Conclusões

Após funduplicatura de Nissen em ratos, a pressão no esfíncter esofágico inferior não retorna aos níveis do controle até o 40º dia pós-operatório.

A quantificação do edema local apresenta relação diretamente proporcional à pressão no esfíncter esofágico inferior e inversamente proporcional ao peso do animal. O edema correlacionado à perda de peso e ao aumento da pressão no esfíncter esofágico inferior pode ser a principal variável relacionada à possível disfagia em ratos submetidos a funduplicatura tipo Nissen.

Referências

- Stein HJ, Barlow AP, DeMeester TR, Hinder RA. Complications of gastroesophageal reflux disease. Role of the lower esophageal sphincter, esophageal acid and acid/alkaline exposure, and duodenogastric reflux. *Ann Surg* 1992;216:35-43.
- Horgan S, Pellegrini CA. Surgical treatment of gastroesophageal reflux disease. *Surg Clin N Am* 1997;77:1063-82.
- Peters JH, Heimbacher J, Kauer WKH. Clinical and physiologic comparison of laparoscopic and open Nissen fundoplication. *J Am Coll Surg* 1995;180:385-93.
- Spechler SJ. Epidemiology and natural history of gastroesophageal reflux disease. *Digestion* 1992; 51(1):24-9.
- Nyhus LM, Condin RE. *Hérnia*. 3ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1991. p565-91.
- Otero TZ, Jarquin AM, Ibarquén JS, Colombo LA. Complicaciones de la cirugía antirreflujo. *Cir & Cir* 2001;69(2):56-61.
- Bais JE, Wijnhoven BPL, Masclee AAM, Smout AJPM, Gooszen HG. Analysis and surgical treatment of persistent dysphagia after Nissen fundoplication. *Br J Surg* 2001;88:569-76.
- Wills VL, Hunt DR. Dysphagia after antireflux surgery. *Br J Surg* 2001;88:486-99.
- Pohl D, Eubanks TR, Omelanczuk PE, Pellegrini CA. Management and outcome of complications after laparoscopic antireflux operations. *Arch Surg* 2001;136:399-408.
- Soto BC, Baoquan Q, Díez-Pardo J, Tovar LJA. Manometric study of the effects of experimental fundoplication in rats. *Rev Esp Enferm Dig* 1998;90(7):487-98.
- Rantanen TK, Salminen JT, Mäkinen JE, Sipponen PI, Kiviluoto TA, Salo JÁ. Clinical significance of esophageal histologic findings after antireflux surgery. *Arch Surg* 2001;136:733-36.

Rocha SL, Souza Filho ZA, Borges FF, Stroparo G, Grippa MM, Gonçalves PCZ. Experimental model of gastric-esophageal fundoplication in rats: manometric and histological study of the esophagus. *Acta Cir Bras* [serial online] 2004 Mar-Apr;19(2). Available from URL: <http://www.scielo.br/acb>.

ABSTRACT - Purpose: The aim of this experimental study is to evaluate the outcomes of having Nissen fundoplication done on rats through the histological analysis of the distal esophagus and manometric study of the lower esophageal sphincter (LES), as well as the evaluation of weight variation of the rats subjected to this procedure, in distinct days after surgery. **Methods:** Have been used 70 male Wistar rats, at the ages of 100 to 130 days, weighing from 250 to 300 grams and divided into 2 groups. The experiment group was composed of 60 rats, subdivided into 6 subgroups according to the time of post-operative manometric measurement: 02, 07, 14, 21, 28 and 40 days, and subjected to fundoplication with posterior manometric analysis of the LES and histological analysis of the distal esophagus. The control group was composed of the ten left animals, which were subjected only to laparotomy with manipulation of the gastric-esophageal junction, and the same analysis has been performed. **Results:** Histological analysis evidenced statistically significant edema ($p=0,0000$) accompanied of weight loss in the subgroups 02 and 07 days. Significant statistic in the manometric study of all groups compared to the control group has been observed ($p=0,0018$). The edema and weight correlation was linear significant and inversely proportional ($t= 2,577 < t_c = +2,132$). Significant linear and directly proportional correlation between edema and manometric has been established ($t= +6,085 > t_c = +2,132$). **Conclusion:** After Nissen procedure in rats, the pressure in the LES does not return to the levels of control group until the 40^o post-operative day. The edema correlated with weight loss and pressure rise in the LES can be the main variable related to the possible dysphagia.

KEY WORDS - Fundoplication. Dysphagia. Edema. Manometry.

Conflito de interesse: nenhum
Fonte de financiamento: nenhuma

Correspondência:
Sérgio Luiz Rocha
Av. Iguçu, 3000/2001
80240-031 Curitiba - PR
rocha@bbs2.sul.com.br

Data do recebimento: 28/12/2003
Data da revisão: 15/01/2004
Data da aprovação: 01/02/2004

*Fotos coloridas disponíveis em www.scielo.br/acb
