

Achados histológicos na parede posterior da laringe em pacientes com refluxo gastroesofageano (GERD)

Guilherme F. Gomes¹, Evaldo D. M. Filho¹,
Júlio C. U. Coelho², Paolo R. O. Salvalaggio³,
Ana Paula M. Sebastião⁴ e Suzana Detoie Gums⁵

Histological findings in the posterior wall of larynx in patients with GERD

Palavras-chave: histologia, refluxo, laringe, biópsia.
Key words: histology, reflux, larynx, biopsy.

Resumo / Summary

Introdução: O mecanismo de manifestações otorrinolaringológicas da doença do refluxo gastroesofageano é provavelmente o resultado de refluxo faringo-gastroesofageano noturno intermitente. O contato da faringe e laringe com o suco gástrico resulta em inflamação e edema, mesmo com pouca ou mínima exposição ácida. Porém, estudos histológicos na parede posterior da laringe, em pacientes com exposição crônica ao suco gástrico, não têm sido realizados mas podem representar importante informação diagnóstica. Este estudo tem como objetivo descrever biópsias de parede posterior de laringe em pacientes portadores de doença do refluxo gastroesofageano. **Forma de estudo:** Prospectivo não randomizado. **Material e método:** No período compreendido entre junho de 1998 a setembro de 1998, foram realizadas biópsias da parede posterior da laringe em sete pacientes portadores de doença do refluxo gastroesofageano (GERD), que apresentavam sintomas crônicos de faringe e laringe. Todos os pacientes realizaram investigação do refluxo gastroesofageano através da endoscopia digestiva alta, e também laringoscopias diretas na procura de lesões laringológicas sugestivas de etiologia relacionada à GERD, e foram classificados em grupo I e grupo II, respectivamente: grupo com laringoscopia normal e grupo com laringoscopia com lesão. **Resultados:** Os resultados mostraram que 42,85% dos pacientes estudados apresentavam epitélio escamoso como revestimento da parede posterior da laringe; 42,85% apresentaram áreas de metaplasia escamosa em permeio ao epitélio pseudoestratificado respiratório; e apenas 28,57% dos pacientes apresentaram epitélio respiratório. Além do mais, 71,4% dos pacientes apresentaram alterações histológicas decorrentes da GERD que são encontradas no esôfago. **Conclusões:** Os resultados deste estudo sugerem que o refluxo gastroesofageano pode estar relacionado com a mudança do epitélio da parede posterior da laringe, assim como estar também relacionado com alterações histológicas inflamatórias dessa região.

Introduction: The mechanisms of the otolaryngologic manifestations of GERD are most likely the result of intermittent nocturnal gastroesophageal-pharyngeal reflux and contact or upper airway structures with refluxate. The contact of the gastric juice with the pharynx and larynx, result in edema and inflammation, even with minimal acid exposition. Although, histological findings in the posterior wall of the larynx in patients with GERD, may be a important diagnostic tool in these patients. The aim of this study is to describe the results of the biopsies of the posterior wall of the larynx in patients with GERD. **Study design:** Prospective no randomized. **Material and method:** We performed biopsies in the laryngeal posterior wall in seven patients complaints of cronical pharyngeal symptoms with gastroesophageal reflux disease (GERD). All the patients were investigated with digestive endoscopy and all had erosive esophagitis. Laryngoscopy were performed looking for lesions suggestive of GERD. Two groups were created: group I - normal laryngoscopy; and group II - laryngoscopy with posterior laryngitis. **Results:** The results showed that 42.85% of the patients presented with scamous epithelium in the laryngeal posterior wall, 42.85% presented areas of scamous metaplasia among the respiratory epithelium and 28.57% of the patients presented with respiratory epithelium. 71.4% of the patients presented with histologic alterations of the GERD that are found in the mucosal esophagus. **Conclusions:** The results of this study suggest that the GERD can be related to the epithelium changes in the laryngeal posterior wall and inflammatory histologic alterations in this region.

¹ Médico do Serviço de Endoscopia e Voz Humana do Hospital Nossa Senhora das Graças

² Chefe do Serviço de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital Nossa Senhora das Graças

³ Residente de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Hospital Nossa Senhora das Graças

⁴ Patologista do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Nossa Senhora das Graças

⁵ Acadêmica Interna de Medicina do Hospital Nossa Senhora das Graças

Trabalho realizado no Serviço de Endoscopia do Hospital Nossa Senhora das Graças – Curitiba/PR

Endereço para correspondência: Dr. Guilherme F. Gomes – Rua Carlos de Carvalho, 1041, apto. 302 – (0xx41): 80340-180 – Curitiba/PR.

Telefone (0xx41): 335-8127 E-mail: guibi@netpar.com.br

Artigo recebido em 03 de abril de 2001. Artigo aceito em 27 de abril de 2001.

INTRODUÇÃO

A doença do refluxo gastroesofageano (GERD) é definida como o fluxo retrógrado de conteúdos gástricos para o esôfago. Esse material refluído, que contém ácido, pepsina, sais biliares e sais pancreáticos, pode irritar ou danificar a mucosa esofageana por ação direta. Atualmente, a definição pragmática da GERD, relatada no último Congresso Mundial de Gastroenterologia⁹, é a seguinte: "O termo doença do refluxo gastroesofageano deve ser usado para incluir todos os indivíduos que estão expostos ao risco de complicações físicas do refluxo gastroesofageano ou que, clinicamente, experimentem piora de sua saúde, relacionada à qualidade de vida, devido a sintomas relacionados com refluxo, após adequado reconhecimento da natureza benigna dos mesmos". A GERD tem sido tema de estudos desde longa data, sendo que Winkelstein, em 1935, relatou esofagite péptica como nova entidade clínica, tendo correlacionado os sintomas com achados endoscópicos. O mesmo autor observou melhora clínica desses pacientes com tratamento medicamentoso anti-refluxo. Estima-se que 10% da população americana têm sintomas de queimação retroesternal ou regurgitação diariamente, e 30 a 50% apresentam sintomas menos frequentemente⁶. Castell, em 1991⁷, classificou os sintomas da GERD em dois grandes grupos: esofageanos e extraesofageanos. Até recentemente, pouco era relatado sobre as manifestações extraesofageanas da doença do refluxo gastroesofageano, mas, atualmente, elas são bem mais reconhecidas e muito mais prevalentes do que se pensava. Muitos dos sintomas crônicos otorrinolaringológicos, como rouquidão crônica, laringite inespecífica, pigarro e globo faríngeo são atualmente causados pelo refluxo gastroesofageano. As alterações laríngeas mais comumente encontradas nos pacientes com sintomas extraesofageanos do refluxo gastroesofageano estão presentes na região posterior da laringe - e a laringite posterior é a mais comum. Esta representa o espessamento da mucosa da parede posterior da laringe (região interaritenóidea) e eritema da região posterior da laringe¹⁵. A mucosa da parede posterior da laringe é revestida por epitélio pseudoestratificado ciliado, segundo estudo de Hirano e colaboradores¹⁰, diferentemente do epitélio da mucosa da laringe anterior, que é do tipo escamoso estratificado.

Este estudo descreve os resultados anatomopatológicos obtidos de biópsias realizadas na parede posterior da laringe de pacientes portadores da doença do refluxo gastroesofageano.

MATERIAL E MÉTODO

No período compreendido entre junho de 1998 e setembro de 1998, foram realizadas biópsias da parede posterior da laringe em sete pacientes portadores de

doença do refluxo gastroesofageano. Devido à dificuldade de se efetuar a biópsia nessa região sem anestesia geral, ela foi realizada no início do procedimento cirúrgico do tratamento da doença do refluxo gastroesofageano, ou seja, fez-se a funduplicatura, a que todos os pacientes desse estudo submeteram-se.

Todos os pacientes eram portadores de doença do refluxo gastroesofageano, e em todos os pacientes foi realizada endoscopia digestiva alta, que mostrou esofagite erosiva distal. O equipamento utilizado para a realização dos procedimentos de endoscopia digestiva alta foi o gastroscópio Olympus (Olympus Optical Co. - Japão) modelo V10.

Todos os pacientes deste estudo também realizaram laringoscopia direta, para identificação de alterações laríngeas decorrentes do refluxo gastroesofageano. A laringoscopia direta foi realizada através da ótica telescópica rígida de 70° (Nagashima Co. - Japão) modelo SFT-1.

As lesões laringológicas associadas ao refluxo gastroesofageano, segundo Stemple, Glaze e Gerdeman, e que foram pesquisadas neste estudo durante a laringoscopia foram: laringite posterior, úlcera de contato, granuloma e leucoplasia.

O termo laringite posterior foi definido como: espessamento da mucosa da parede posterior da laringe e/ou hiperemia de aritenóides.

Os critérios de inclusão dos pacientes nesse estudo foram os seguintes:

- 1- Pacientes portadores de doença do refluxo gastroesofageano com sintomas simultâneos típicos (esofageanos) e atípicos (extraesofageanos).
- 2- Ausência de história anterior de doenças alérgicas otorrinolaringológicas.
- 3- Ausência de tabagismo.
- 4- Pacientes com ou sem lesões laríngeas sugestivas de refluxo gastroesofageano.

Os critérios de exclusão dos pacientes neste estudo foram os seguintes:

- 1- Pacientes com doença do refluxo gastroesofageano com sintomas somente esofageanos.
- 2- Pacientes tabagistas.

Após a identificação do tipo do sintoma do paciente e a realização da laringoscopia direta, os pacientes foram classificados em dois grupos:

- I- laringoscopia normal.
- II- laringoscopia com lesão.

A biópsia da parede posterior da laringe foi realizada através de laringoscopia de suspensão - e a pinça de biópsia utilizada foi a rígida. Em todos os pacientes foram retirados três fragmentos - e o material foi encaminhado ao Serviço de Anatomia Patológica. Neste estudo, o patologista seguiu o seguinte critério na análise das lâminas:

- (a) identificar o epitélio da parede posterior da laringe

- como sendo o respiratório, que segundo estudo de Hirano⁵ é o epitélio normal de revestimento da parede posterior da laringe;
- (b) identificar a presença de metaplasia escamosa em permeio ao epitélio respiratório;
 - (c) identificar somente o epitélio escamoso na parede posterior da laringe; e
 - (d) identificar as mesmas alterações histopatológicas relacionadas ao refluxo gastroesofageano em biópsias da mucosa esofageana.

As alterações histológicas decorrentes do refluxo gastroesofageano, que são encontradas no esôfago e que foram adotadas neste estudo são:

- (a) presença de células inflamatórias intraepiteliais na lâmina própria;
- (b) espessamento da camada de células basais (no epitélio pseudoestratificado respiratório este critério não foi aplicado);
- (c) o alongamento das papilas do córion;
- (d) proliferação vascular em córion papilar.

Os pacientes que apresentavam somente uma das quatro alterações histológicas relacionadas acima foram considerados como apresentando alterações histológicas de refluxo gastroesofageano na laringe.

RESULTADOS

Três pacientes eram do sexo masculino (42,85%) e quatro pacientes eram do sexo feminino (57,14%). A sintomatologia dos pacientes deste estudo é mostrada na Tabela 1. A média de idade dos sete pacientes estudados foi de 52,71 anos.

O tempo de evolução dos sintomas variou de 4 a 420 meses, sendo a média de 212 meses.

Todos os pacientes apresentavam hérnia de hiato esofageano e esofagite erosiva distal - e a Tabela 2 mostra o grau da esofagite segundo a classificação de Savary-Muller modificada¹⁹.

Dentro do grupo I (pacientes com laringoscopia normal), foram incluídos quatro pacientes (57,14%). O grupo II apresentava três pacientes com laringoscopia alterada (42,85%) - e todas as alterações foram representadas por laringite posterior. Neste estudo, nenhum paciente apresentava outras alterações laringológicas

relacionadas com refluxo gastroesofageano, como: úlcera de contato, granuloma e leucoplasia das pregas vocais.

O resultado anatomopatológico da biópsia da parede posterior da laringe de três pacientes do grupo I foi epitélio escamoso (75%); e em um paciente (25%) foi epitélio respiratório. Os três pacientes com epitélio escamoso apresentavam alterações histológicas compatíveis com refluxo gastroesofageano na laringe (presença de células inflamatórias intraepiteliais e na lâmina própria, espessamento da camada de células basais, extensão do córion papilar e proliferação vascular no córion papilar). O paciente do grupo I que apresentava epitélio pseudoestratificado respiratório também apresentava alterações histológicas compatíveis com refluxo gastroesofageano na laringe (exocitose de neutrófilos).

O resultado anatomopatológico da biópsia da parede posterior da laringe dos três pacientes do grupo II foi de áreas de epitélio escamoso (100%) em permeio ao epitélio pseudoestratificado. Um dos pacientes com epitélio escamoso apresentava alterações histológicas de refluxo gastroesofageano na laringe.

Quando se considerou os grupos I e II juntos, 71,4% dos pacientes apresentavam alterações histológicas do refluxo gastroesofageano na laringe; 42,85% dos pacientes apresentavam epitélio escamoso como revestimento da parede posterior da laringe; 42,85% dos pacientes apresentavam área de metaplasia escamosa em permeio no epitélio pseudoestratificado respiratório, e, somente 14,28% dos pacientes apresentavam o epitélio pseudoestratificado normal de revestimento da parede posterior da laringe.

Todos os pacientes deste estudo (100%) apresentaram algum tipo de alteração histológica na biópsia da parede posterior da laringe, seja da mudança do epitélio ou da alteração das camadas da parede da laringe.

DISCUSSÃO

Atualmente, muitos sintomas crônicos otorrinolaringológicos e pulmonares, como: rouquidão, pigarro crônico, globo faríngeo, disfagia, tosse crônica, estridor e asma têm sido relacionados à GERD. Bain e cols.¹ sugeriram que a irritação direta da mucosa e os mecanismos reflexos aberrantes e retrógrados, via nervo vago, são os dois

Tabela 1. Sintomatologia esofageana e extraesofageana

Pacientes	Sintomatologia Típica	Sintomatologia Atípica
1	Epigastralgia + pirose	Tosse crônica
2	Epigastralgia	Pigarro e globo faríngeo
3	Disfagia + pirose	Tosse crônica
4	Pirose	Pigarro crônico
5	Epigastralgia + pirose	Queimação + globo faríngeo
6	Epigastralgia	Pigarro crônico + disфонia
7	Epigastralgia	Globo faríngeo + queimação

Tabela 2. Grau de esofagite segundo a classificação de Savary-Muller modificada.

Classificação Esofagite	N (Pacientes)	% (Pacientes)
I	5	71,42
II	1	14,28
III	1	14,28
IV	0	0
V	0	0 ^e

mecanismos implicados no aparecimento dos sintomas na faringe e na laringe. Batch² em 1988, estudou pacientes que apresentaram somente globo faríngeo, e submeteu-os a um questionário clínico e psicológico detalhado, além da investigação do refluxo gastroesofageano (manometria e pHmetria de 24 horas). O autor encontrou alta incidência de refluxo gastroesofageano, e também relatou melhora dos sintomas em 70,5% dos pacientes com tratamento anti-refluxo por seis semanas. O mesmo autor não encontrou diferença no perfil psicológico desses pacientes, quando comparados com outros pacientes otorrinolaringológicos.

Koufman¹⁶ estudou a presença do refluxo gastroesofageano com monitorização do pH esofageano de 24 horas de duplo canal em pacientes com manifestações otorrinolaringológicas da GERD, e subdividiu os pacientes em grupos com sintomas diferentes. Esse autor relatou os seguintes resultados da presença do refluxo gastroesofageano: carcinoma da laringe (71%), estenose (78%), laringite de refluxo (60%), globo faríngeo (58%), disfagia (45%), tosse crônica (52%) e miscelânea (13%).

Macedo¹⁸ estudou 74 pacientes portadores de sintomas extraesofageanos da GERD com e sem lesões da laringe sugestivas do refluxo ácido, e encontrou 79,41% de refluxo gastroesofageano no grupo com lesões da laringe e 55% de refluxo gastroesofageano no grupo sem lesões da laringe, com diferença estatística significativa da presença do refluxo gastroesofageano no grupo com lesões da laringe. A investigação do refluxo gastroesofageano foi realizada através da endoscopia digestiva alta.

Além do mais, muitos dos processo crônicos e neoplásicos do trato aerodigestivo, como: hipertrofia cricofaríngea, membranas esofageanas, câncer de laringe e estenoses subglóticas têm sido relacionados à GERD^{1,16,17}.

Apesar de a resposta histopatológica do epitélio esofageano ao refluxo ácido ser bem documentada^{12,23}, a resposta histopatológica do epitélio do trato respiratório superior ao ácido tem sido demonstrada somente em estudos animais experimentais^{17,18,25}. Muito poucos artigos na literatura abordam a histologia da parede posterior da laringe, sobretudo em pacientes portadores da doença do refluxo gastroesofageano¹³. Hirano, em 1986, estudou vinte laringes obtidas de autópsias¹⁰, entre os quais 10 eram do sexo masculino e 10 do sexo feminino. Este estudo mostrou que a mucosa da parede posterior da laringe apresentava epitélio pseudoestratificado ciliado, contrastando com o epitélio de revestimento da glote anterior, que é escamoso estratificado.

Os resultados do presente estudo mostraram que 42,85% dos pacientes apresentavam epitélio escamoso como revestimento da parede posterior da laringe; 42,85% apresentaram áreas de metaplasia escamosa em permeio ao epitélio pseudoestratificado respiratório; e somente 28,57% apresentavam epitélio respiratório. Todos os pacientes eram portadores de doença do refluxo gastroeso-

fageano com sintomas típicos e atípicos; e, portanto, os resultados deste estudo sugerem que o refluxo gastroesofageano pode alterar o epitélio de revestimento da parede posterior da laringe, devido ao estímulo crônico do ácido, transformando o epitélio pseudoestratificado ciliado em escamoso. Os mecanismos lesionais são facilitados pela posição mais baixa da laringe, associada à postura glótica relaxada (abduzida), o que favorece a ação direta do conteúdo refluído, diferentemente do que ocorre no ato da deglutição, quando a laringe está em posição elevada, com a epiglote inferiorizada, o vestíbulo laríngeo e o plano das pregas vocais completamente fechados.

Dos pacientes deste estudo, 71,4% apresentaram alterações histológicas decorrentes do refluxo gastroesofageano que são encontradas no esôfago. O diagnóstico histológico da esofagite de refluxo tem sido bem estabelecida em estudos anteriores^{3,5,11,14}. Indicadores morfológicos de crescimento celular, como espessamento da camada de células basais e aumento das papilas, são indicadores sensitivos e específicos de esofagite de refluxo^{11,14}. Winter²⁴ e Shub²¹ mostraram que a especificidade da presença de células inflamatórias (neutrófilos e eosinófilos) como marcadores histológicos para a esofagite de refluxo em crianças era maior que 90%. Porém, outros estudos em relação à presença de células inflamatórias como marcadores histológicos para a esofagite de refluxo tem sido inconclusivos^{3,5,20}. Black⁴ relatou que está claro, de acordo com o estudo deste autor e de outros dados da literatura, que as células inflamatórias intraepiteliais e as medidas morfológicas do espessamento da camada de células basais e do tamanho das papilas são indicadores de esofagite de refluxo. Entretanto, a maior importância reside na determinação da sensibilidade desses indicadores histológicos no diagnóstico da esofagite de refluxo. Vandenplas²² relata que parece existir um consenso entre médicos norte-americanos e europeus sobre a GERD em crianças. A abordagem da biópsia do esôfago não tem impacto positivo, já que a presença ou ausência da esofagite histológica não influencia no manejo e no tratamento desses pacientes. A biópsia esofageana é somente de ajuda, para contribuir e/ou excluir o refluxo gastroesofageano como etiologia dos sintomas.

Kambic¹³ relatou estudo onde realizou biópsias da parede posterior da laringe em 44 pacientes com laringite ácida crônica. Seus resultados mostraram que todos os pacientes apresentaram alterações histológicas típicas de processo péptico, como epitélio pseudoestratificado com hiperplasia basal e infiltrado estromal com tendência a migrar entre as células epiteliais.

Os resultados histopatológicos do presente estudo mostraram que todos os pacientes apresentavam pelo menos uma das quatro alterações histológicas sugestivas de lesão péptica por refluxo gastroesofageano. Estudos posteriores devem ser realizados com maior número de

pacientes e com grupo controle, para se verificar a ocorrência das alterações histológicas no grupo controle - e também de se estudar a sensibilidade dos parâmetros histológicos relacionados com o refluxo gastroesofageano.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo sugerem que o refluxo gastroesofageano pode estar relacionado com a mudança do epitélio da parede posterior da laringe, assim como também estar relacionado com alterações histológicas inflamatórias dessa região. A realização da biópsia da parede posterior da laringe, futuramente, pode vir a ser um método de investigação da GERD em pacientes com sintomas extraesofageanos. Estudos posteriores com grupo controle devem ser realizados para a confirmação destes dados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BAIN, W.M.; HARRINGTON, J.W.; THOMAS, L.E. et al. Head and Neck Manifestations of Gastroesophageal Reflux. *Laryngoscope*. 93:175-9, 1983.
2. BATCH, A.J.G. Globus Pharyngeus: (Part II), Discussion. *J. Laryngol Otol*. 102, 1988.
3. BEHAR, J.; SHEAHAN, D.C. Histologic abnormalities in Reflux Esophagitis. *Arch Pathol* 99:387-91, 1975.
4. BLACK, D.D.; HAGGITT, R.C.; ORENSTEIN, S.R. et.al. Morphometric Histological Diagnosis and Correlation With Measures of Gastroesophageal Reflux. *Gastroenterology* 98:1408-14, 1990.
5. BROWN, L.F.; GOLDMAN, H.; ANTONIOLI, D.A. Intraepithelial Eosinophilin Endoscopic Biopsies of Adults with Reflux Esophagitis. *Am J Surg Pathol* 8:899-905, 1984.
6. CASTELL, D.O; WU, W.C.; OTT, D.J. Gastro-esophageal reflux disease. Pathogenesis, Diagnosis, Therapy. Futura Publishing Company, Inc, Mont Kisco, NY, p.325, 1985.
7. CASTEL, D.O. The esophagus. 2 ed. Boston: Little, Brown, 1995.
8. DELAHUNTY, J.E.; CHERRY, J. Experimentally Produced Vocal Cord Granulomas. *Laryngoscope*. 78:1941-7, 1968.
9. DENT, J. Gastroesophageal Reflux Disease. *Digestion*, 5:433-45, 1998
10. HIRANO, M. e cols. Posterior Glottis: Morphological Study In Excised Human Larynges. *Ann Otol Laryngol*, v.95, 1986
11. ISMAIL-BEIGI; HORTON, P.F; POPE, C.E. et al. Histological Consequences of Gastroesophageal Reflux in Man. *Gastroenterology* 58:163-74, 1970.
12. JOHNSON, L.F.; DEMESSTER, T.R.; HAGGITT, R.C. Esophageal Epithelial Reponse to Gastroesophageal Reflux: A Quantitative Study. *Am J Dig Dis* 23:498-509, 1978.
13. KAMBIC, V; RADSEL, Z. Acid Posterior Laryngitis. *J. Laryngol Otol*. 98:1237-40, 1984.
14. KOBAYASHI, S.; KASUGAI, T. Endoscopic and Biopsy Criteria for the Diagnosis of Esophagitis with a Fiberoptic Esophagoscope. *Am J Dig Dis* 19:345-52, 1974.
15. KOUFMAN, J.A. The Otolaryngologic Manifestations of Gastroesophageal Reflux Disease (GERD). The Laryngoscope, vol 101, n4 part 2, abril 1991 supplement n. 53.
16. KOUFMAN, J.A. The Otolaryngologic Manifestations of Gastroesophageal Reflux Disease (GERD): Ambulatory 24-Hour Monitoring and na Experimental Investigation or the Role of Acid and Pepsin in the Development of Laryngeal Injury. *Laryngoscope* v.101, sup.53, p.1-78, 1991.
17. LITTLE, F.B.; KOUFMAN, J.A.; KOHUT, R.I. et.al. Effect of Gastric Acid on the Pathogenesis of Subglottic Stenosis. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 94:516-9, 1985.
18. MACEDO-FILHO, E.D. - Estudo da presença de refluxo gastroesofageano em pacientes com lesões na região posterior da laringe, comparação com grupo controle. Curitiba, 1996. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Setor das Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
19. OLLYO, J.B.; FONTOLLIET, C.; BROSSARD, E. et al. La nouvelle classification de Savary des oesophagites de reflux. *Acta Endoscopica*, 22:307-20, 1992.
20. SEEFELD, U.; KREJS, G.J.; SIEBENMANN, R.E. et.al. Esophageal Histology in Gastroesophageal Reflux: Morphometric Findings in Suction Biopsies. *Am J Dis Dig*. 22:956-64, 1977.
21. SHUB, M.D.; ULSHEN, M.H.; HARGROVE, C.B. Esophagitis: a Frequent Consequence of Gastroesophageal Reflux in Infancy. *J Pediatric* 107:881-4, 1985.
22. VANDENPLAS, Y. Reflux Esophagitis: Biopsy or Not? *J Pediatric Gastro Nutr* 22:326-7, 1996.
23. WEINSTEN, W.M.; BOGOCH, E.R.; BOWES, K.L. The Normal Human Esophageal Mucosa: A Histological Reappraisal. *Gastroenterology*. 68:40-4, 1975.
25. WYNNE, L.F.; RAMPAL, R.; HOOD, C.I. Tracheal Mucosal damage after aspiration. A Scanning Electron Microscope Study. *Ann Rev Respirat Dis* 124:728-32, 1981.
24. WINTER, H.S.; MADARA, J.L.; STAFFORD, R.J. et.al. Intraepithelial Eosinophils: a New Diagnostic Criterion for Reflux Esophagitis. *Gastroenterology* 83:818-23, 1982.