

EDMILSON VIEIRA GAIA FILHO

**MODELO EXPERIMENTAL DE REFLUXO GASTROESOFÁGICO
EM RATOS.**

**Tese apresentada à Universidade Federal
de São Paulo – Escola Paulista de
Medicina, para obtenção do título de
Mestre em Medicina.**

**SÃO PAULO
2005**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Ficha catalográfica

Gaia Filho, Edmilson Vieira

Modelo experimental de refluxo gastroesofágico em ratos/
Edmilson Vieira Gaia Filho. -- São Paulo, 2005.
xi, 78p.

Tese (Mestrado) – Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista
de Medicina. Programa de Pós-graduação em Gastroenterologia
Cirúrgica.

Título em inglês: Experimental model of gastroesophageal reflux in
rats.

1. Refluxo. 2. esofagite. 3. Modelo Experimental. 4. Refluxo esofágico.

EDMILSON VIEIRA GAIA FILHO

MODELO EXPERIMENTAL DE REFLUXO GASTROESOFÁGICO EM RATOS.

Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina, para obtenção do título de Mestre em Medicina.

COORDENADOR: PROF. DR. DELCIO MATOS

ORIENTADOR : PROF. DR. ALBERTO GOLDENBERG

CO-ORIENTADORA : PROFA . DRA. CARMEN PEREIRA RAMOS

**SÃO PAULO
2005**

Aos meus pais, Edmilson e Solange.

À minha esposa Sandra.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. HENRIQUE OLIVEIRA COSTA, Patologista, pela contribuição relacionada ao estudo patológico, documentação do histopatológico e ao esclarecimento de dúvidas.

À Profa. Dra. CARMEN PEREIRA RAMOS, que participou da revisão da tese.

Ao Sr. MARCELO ROBERTO XAVIER DE MELO, funcionário do biotério, pela dedicação demonstrada.

À Sr^a JOSELITA BARBOSA LEAL, secretária do Departamento de Cirurgia da UNCISAL-ECMAL, pela eficiente assessoria prestada na organização dos módulos.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. ALBERTO GOLDENBERG, orientador, prof. Adjunto da Disciplina de Gastroenterologia Cirúrgica do Departamento de Cirurgia da UNIFESP-EPM, por acreditar na idéia do Trabalho Científico, assim como pela orientação e transmissão de conhecimento.

Ao Prof. Dr. SAUL GOLDENBERG, pelo incentivo proporcionado à pesquisa, procurando envolver cirurgiões e estudantes com a cirurgia experimental.

Ao Prof. Dr. DELCIO MATOS, que acreditou no projeto do Mestrado Interinstitucional envolvendo a UNIFESP e a UNCISAL.

Ao Prof. Dr. GUILHERME BENJAMIN BRANDÃO PITTA, coordenador local do Mestrado Interinstitucional, que convenceu a UNIFESP a acreditar neste projeto.

À Prof^a. NILZA MARTINS AMARAL, Coordenadora da UNCISAL, pelo apoio oferecido ao biotério e ao Mestrado Interinstitucional.

À Prof^a. DINALVA BEZERRA, Ex-Presidente da UNCISAL, pelo apoio financeiro que ofereceu para a realização dos módulos do mestrado Interinstitucional.

Ao Prof. TELMO HENRIQUE BARBOSA, Presidente da UNCISAL, pelo apoio financeiro que ofereceu para a conclusão do mestrado interinstitucional.

Ao Prof. CARLOS CÂNCIO, Professor Assistente da Disciplina de Parasitologia do Departamento de Patologia e Coordenador do Biotério da Disciplina de Técnica Operatória e Anestesiologia da UNCISAL-ECMAL, por seu apoio ao desenvolvimento de estudos experimentais no Biotério.

“Se você é possuído por uma idéia, encontra-a em toda parte, talvez até a fareje”.
Thomas Mann.

“ Pessoas persistentes começam seu sucesso onde outros terminam com fracasso ”.
Edward Egglestone.

**“ Para encontrar a verdade é preciso imaginação e ceticismo.
Não temer especular, mas distinguir o que é fato”.**
Carl Sagan.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVO.....	04
3. MÉTODOS.....	05
4. RESULTADOS.....	21
5. DISCUSSÃO.....	41
6. CONCLUSÕES.....	60
7. REFERÊNCIAS.....	61
NORMAS ADOTADAS.....	65
RESUMO.....	66
ABSTRACT.....	68
ANEXOS.....	70

Abreviações

Refluxo gastroesofágico(RGE)
PANA(Poliacrylato de Sódio).
Hematoxilina-Eosina(HE).
Junção esofagogástrica(JEG).

1. INTRODUÇÃO

A doença do refluxo gastroesofágico(RGE) vem assumindo importância clínica e cirúrgica na última década. É uma das queixas mais comuns em consultórios, acometendo a cerca de 10% da população(ZILBERSTEIN, 1999). É responsável por 75% das doenças do esôfago(STEIN, 1992 e FUNES, 2000).O seu tratamento ainda é motivo de controvérsias.

Modelos experimentais de RGE são importantes para estudar a ação do suco ácido e alcalino, assim como, para avaliar a eficácia terapêutica de drogas, e de técnicas operatórias.

O fechamento do piloro e do rúmen colaborou para o estudo da esofagite de refluxo em ratos, conforme modelos desenvolvidos por OMURA(1999), NAKAMURA(1982) e INATOMI(1991).Os autores, também, testaram a eficácia terapêutica de diferentes drogas protetoras da mucosa esofágica.

O estômago do rato é constituído de duas divisões anatômicas: a divisão superior é composta do rúmen(região cardíaca, pró-ventrículo). No ser humano equivaleria ao fundo gástrico e grande curvatura.Tem função exclusiva de reservatório.O epitélio é fino e similar ao do esôfago.É facilmente identificado pelo aspecto transparente que possui. A divisão inferior é conhecida como região

pilórica ou glandular (**HELSINGEN, 1959**). No estômago humano, seria localizada nas regiões da pequena curvatura, corpo e antro.

O esôfago do rato é composto de uma camada muscular que recobre a camada mucosa do órgão. A camada muscular é formada por músculo estriado. A camada muscular da mucosa é desenvolvida. O epitélio da mucosa é do tipo escamoso estratificado. A porção abdominal do esôfago é redundante e fácil de ser abordada por laparotomia. O cárdia se comporta como uma eficiente barreira contra o RGE (**HELSINGEN, 1959**).

RADMARK et al(1989) publicaram um trabalho experimental realizado em cães, onde incisaram o pilar esquerdo do diafragma. O objetivo era estudar a existência de uma barreira mecânica, associada ao esfíncter muscular inferior do esôfago. Concluíram que o diafragma contribui, de forma passiva, para a competência do esfíncter inferior do esôfago.

CREMA(1998) desenvolveu, no Brasil, um modelo de esofagite de refluxo em cães. Realizou uma cardiomiectomia ampla e comparou com três tipos de funduplicatura (anterior, posterior e lateral). O objetivo era fazer um estudo comparativo com as modificações técnicas de diferentes válvulas anti-refluxo.

Apesar da existência de vários modelos experimentais de refluxo gastroesofágico, não existe uma unanimidade sobre o tipo de modelo ideal. O trabalho, desenvolvido por CREMA em cães, é o que mais se aproxima das alterações funcionais que levam ao refluxo no homem.

Não encontramos em animais de pequeno porte estudos semelhantes, por isso este trabalho se propõe a desenvolver um novo

modelo em ratos, que seja menos complexo, por meio da realização de técnica operatória que preserve a anatomia original dos órgãos envolvidos.

2. Objetivo

Desenvolver um modelo experimental de refluxo gastroesofágico em ratos.

3. Métodos

3.1. Amostra

Foram utilizados 60 ratos Wistar machos com peso variando de 222,5 a 397 gramas, e idade de 6 a 8 meses, provenientes do biotério da ECMAL-UNCISAL. Alimentavam-se com ração padronizada e soro glicosado 5%. Eles conviveram agrupados em gaiolas(4 ratos / gaiola) no pré-operatório, e em gaiolas individuais no pós-operatório com temperatura ambiente, ventilação e iluminação adequadas. Dentro das gaiolas, colocamos resíduos de serragem, para absorverem os excrementos líquidos dos animais. Os procedimentos cirúrgicos obedeceram aos critérios, normas técnicas e direitos internacionais de pesquisa em animais sob orientação do comitê de ética do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal(COBEA), avaliação e aprovação do comitê de ética em pesquisa da ECMAL-UNCISAL e da UNIFESP-EPM. Os animais foram assistidos por veterinário responsável pelo biotério da Instituição, obedecendo-se à lei federal nº 6638, de 08 de maio de 1979 – Normas para a prática didático-científica da vivisseção de animais.

3.1.2. Distribuição dos animais em 3 grupos

Grupo A - 20 animais. Miectomia total .

Grupo B - 20 animais. Miectomia parcial.

Grupo C(Sham) - 20 animais.

3.2. Delineamento da pesquisa

Foi realizado conforme esquema a seguir: (figura 1).

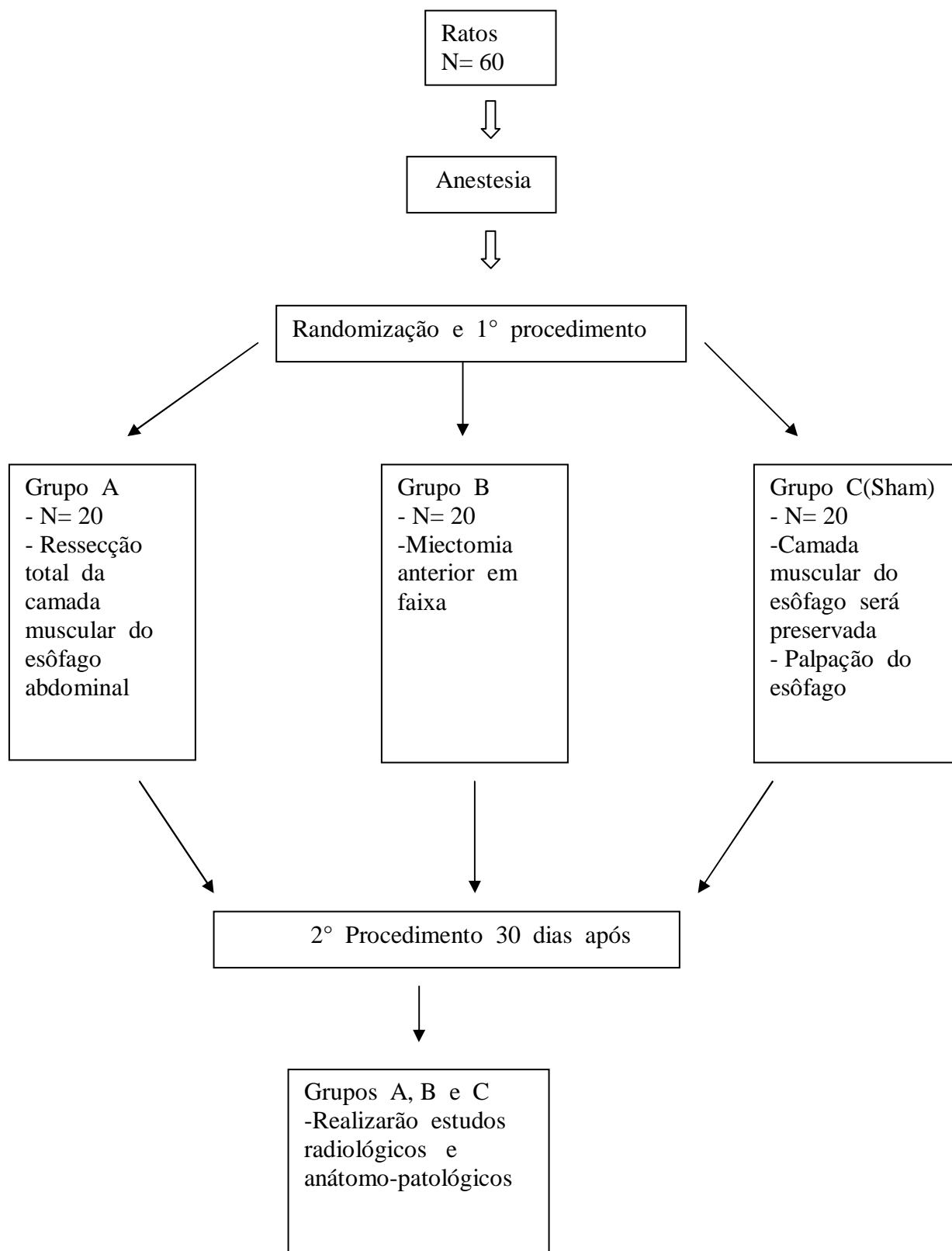


Figura 1 – Delineamento da pesquisa.

3.3. PROCEDIMENTOS

Uma ficha de protocolo foi elaborada e está em anexo(nº 01).

3.3.1. Preparo pré-operatório e anestesia

Os animais foram mantidos em jejum 2 horas antes da operação. A anestesia foi intraperitoneal com cloridrato de xilazina, 20mg/ml e cloridrato de cetamina, 100mg/ml, na proporção de 1:1 com 0,1ml da solução para cada 100 gramas de peso, conforme os primeiros ensaios experimentais. Após 10 minutos, o animal foi pesado e levado à mesa cirúrgica. Realizamos a contenção dos quatro membros, mantendo-se o animal em posição dorsal. Após a raspagem dos pêlos da região abdominal, foi realizada a anti-sepsia da pele com polivinilpirrolidona-iodo(PVPI) a 10%. A seguir foram colocados os panos operatórios esterilizados e o ato operatório se realizou com técnica asséptica.

3.3.2. Técnica operatória

Os animais foram submetidos à laparotomia mediana com 3 cm de extensão a partir do apêndice xifoíde. Foi realizado o inventário da cavidade peritoneal. Os animais foram numerados de 1 a 60. Neste momento, foi sorteado o animal para compor cada grupo de estudo, constituindo o nosso critério de randomização.

Nos animais do grupo A, foi ressecada a camada muscular (miectomia) que envolve o esôfago abdominal, por meio de miotomia anterior, com extensão de 1,5 cm iniciando na JEG e dissecção dos bordos laterais da camada muscular próximo à mucosa, seguindo um plano de clivagem (figuras nº 2,3,4,5,6). Após expor a mucosa, foi feita a hemostasia dos vasos sangrantes por compressão. A camada muscular foi enviada para estudo histológico(figura nº 7 e anexo nº 2).

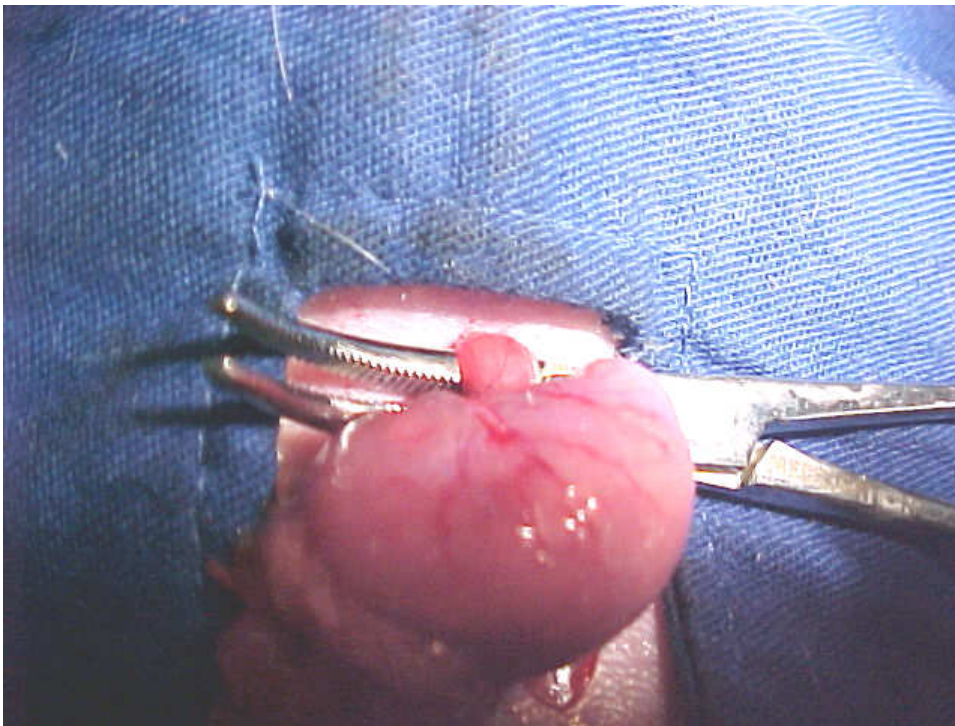


Figura nº 2 : Foto do rato nº 07, grupo A. Exposição do estômago e isolamento do esôfago.

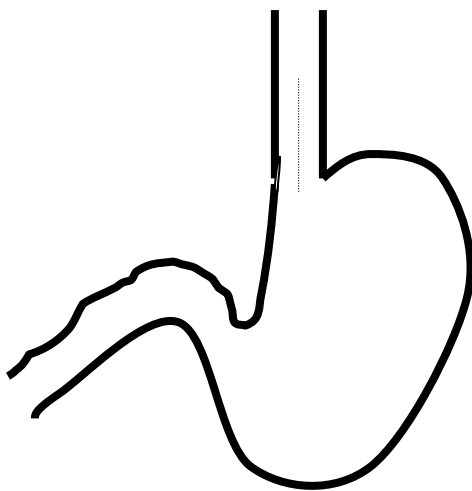


Figura nº 3: Desenho da miotomia anterior no esôfago.

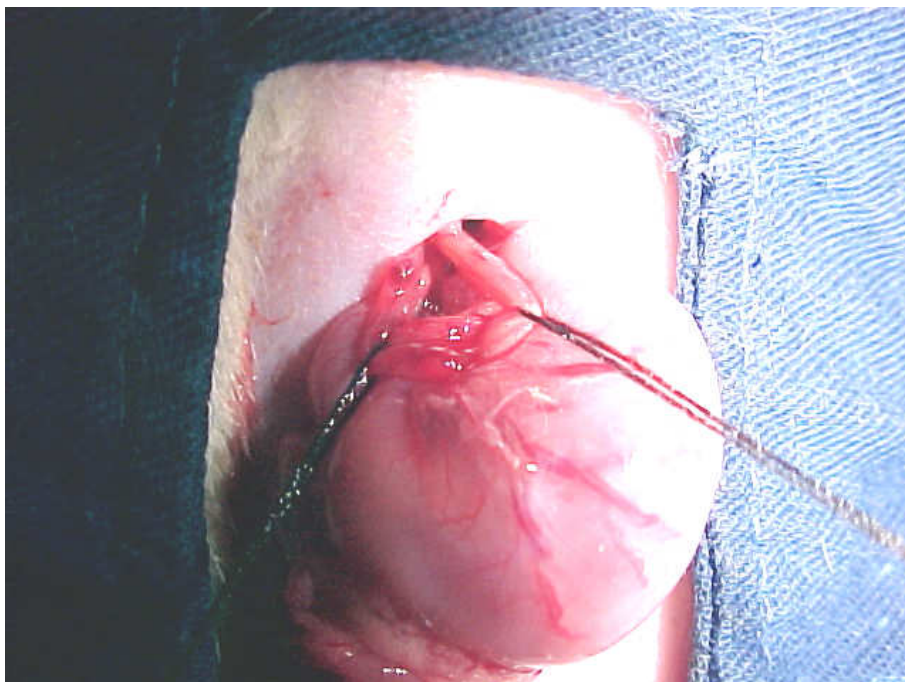


Figura nº 4 : Foto do rato nº 07, grupo A. Dissecção e separação da camada muscular(a esquerda) do esôfago(a direita).

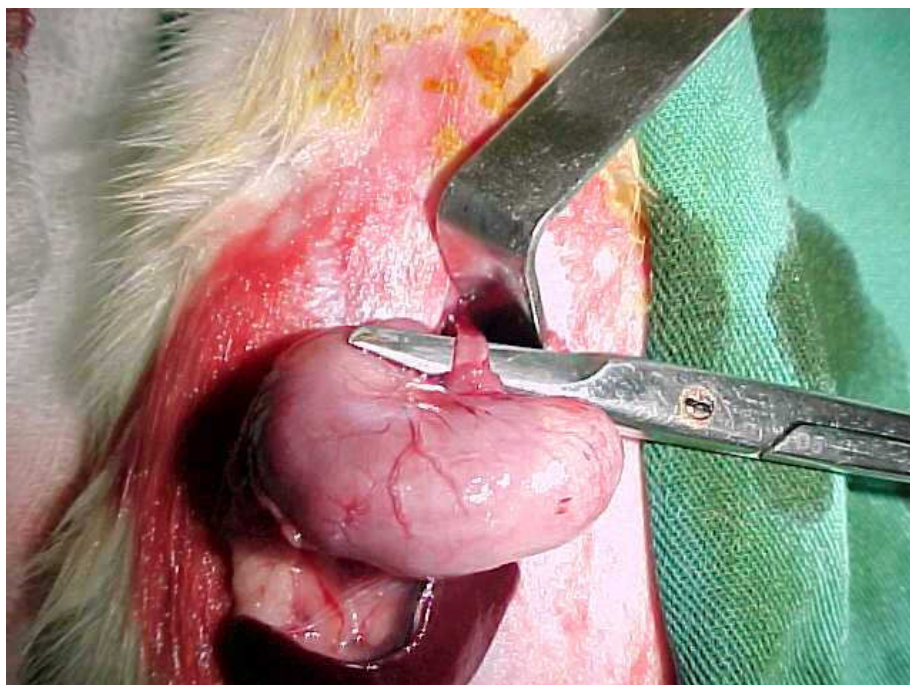


Figura nº 5 : Foto do rato nº 19, grupo A. Realizada a ressecção da camada muscular do esôfago.

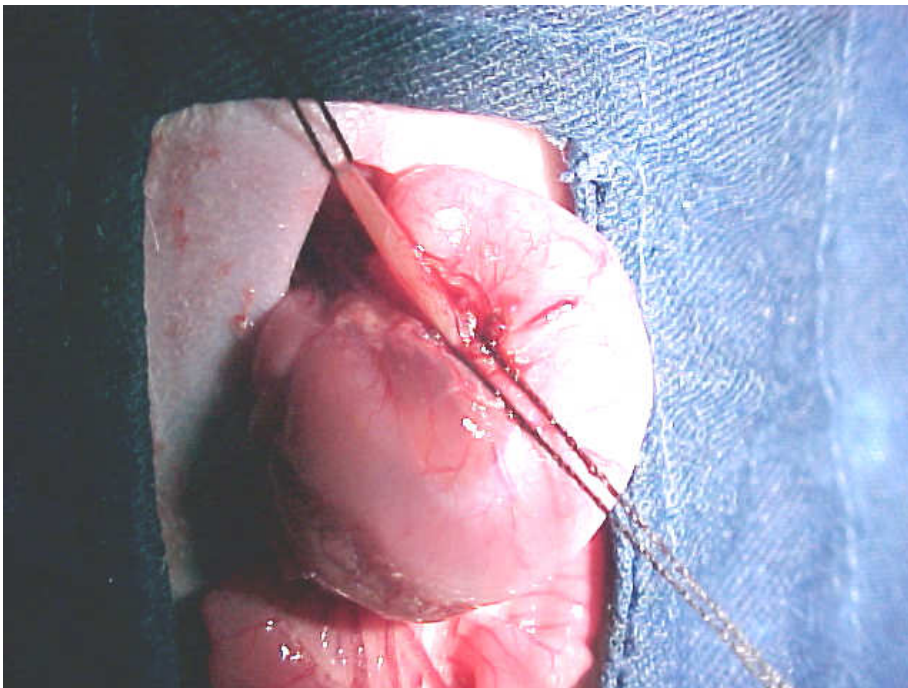


Figura nº 6 : Foto do rato nº 07, grupo A. Esôfago inferior desprovido da camada muscular.



Figura nº 7: Foto do rato nº 07, grupo A. Extensão transversal da camada muscular que envolve o esôfago(miectomia total).

No grupo B, ressecamos uma faixa da camada muscular anterior do esôfago abdominal, iniciando-se na JEG, com 1,5 cm de extensão e 2mm de largura. A camada muscular também foi enviada para exame histológico(figuras 8 e 9).

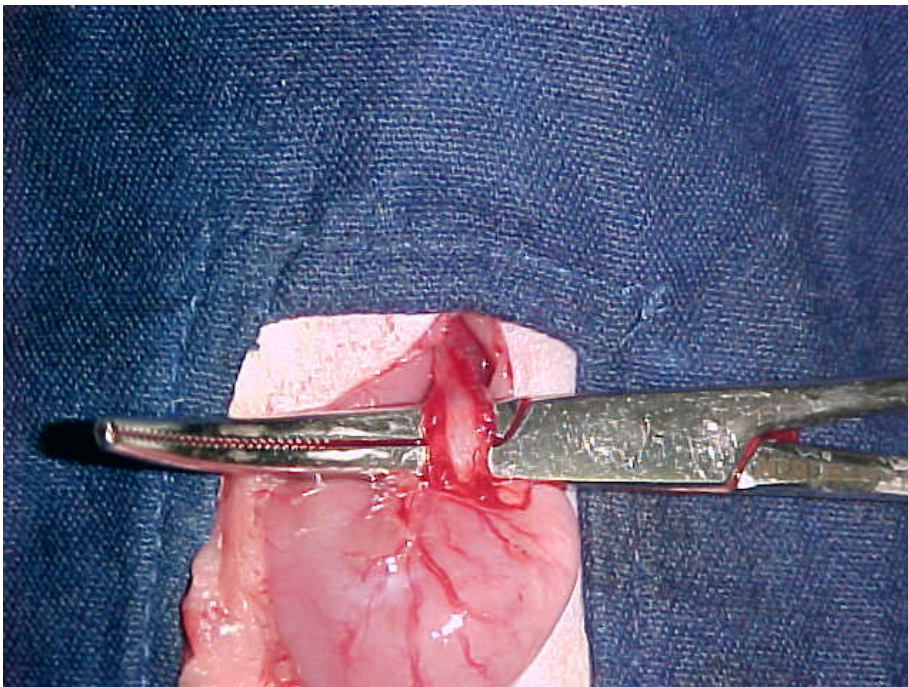


Figura nº 8: Foto do rato nº 25, grupo B. Retirada de faixa longitudinal da camada muscular anterior do esôfago inferior.

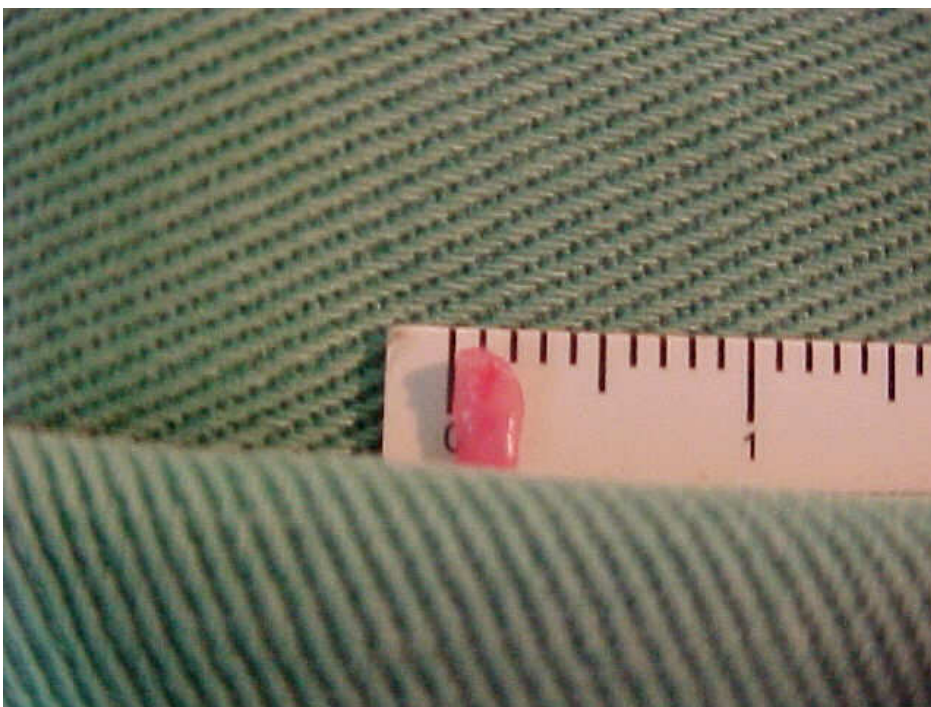


Figura nº 9 : Foto do rato nº 28, grupo B. Extensão transversal da camada muscular anterior do esôfago(miectomia parcial).

No grupo C, o procedimento ficou restrito à palpação do esôfago.

A aponeurose dos músculos retos abdominais foi suturada com fio de mononylon 3-0, de forma contínua. A pele foi suturada de maneira similar. Foram excluídos os animais que apresentaram perfuração e/ou hemorragia no esôfago, estômago e/ou duodeno.

3.3.3. Cuidados pós-operatórios

Após o término do procedimento operatório, os animais foram recuperados da anestesia em gaiola individual, e, em seguida, tiveram dieta líquida. A partir do oitavo dia, a dieta foi livre. Administrou-se dipirona(gotas) por via oral do pós-operatório imediato ao sétimo dia de pós-operatório, na posologia de 1 gota / 250g /dia . Procurou-se observar nos animais a presença de distúrbios da motilidade esofágica, como a regurgitação. Os animais continuaram em observação diária no biotério por 30 dias, sob a supervisão do veterinário responsável.

3.3.4. Segundo procedimento

3.3.4.1. Avaliação do refluxo gastroesofágico

Após 30 dias, os animais foram submetidos ao 2º procedimento, obedecendo à mesma seqüência de jejum, anestesia, aferição do peso e exposição da cavidade peritoneal, conforme já descrito anteriormente.

3.3.4.1.1. Estudo radiológico

Por meio de duodenotomia, transversal, de 2 mm, e a 3cm do piloro, foi introduzida uma sonda plástica de nelaton número 8, cuja extremidade proximal foi posicionada junto ao piloro. Um fio de algodão, número 0 foi passado em torno do duodeno, próximo ao piloro, com o objetivo de ocluir o duodeno e fixar a sonda de nelaton. Uma segunda fixação foi realizada a 3 cm da primeira (figuras nº 10 e 11).

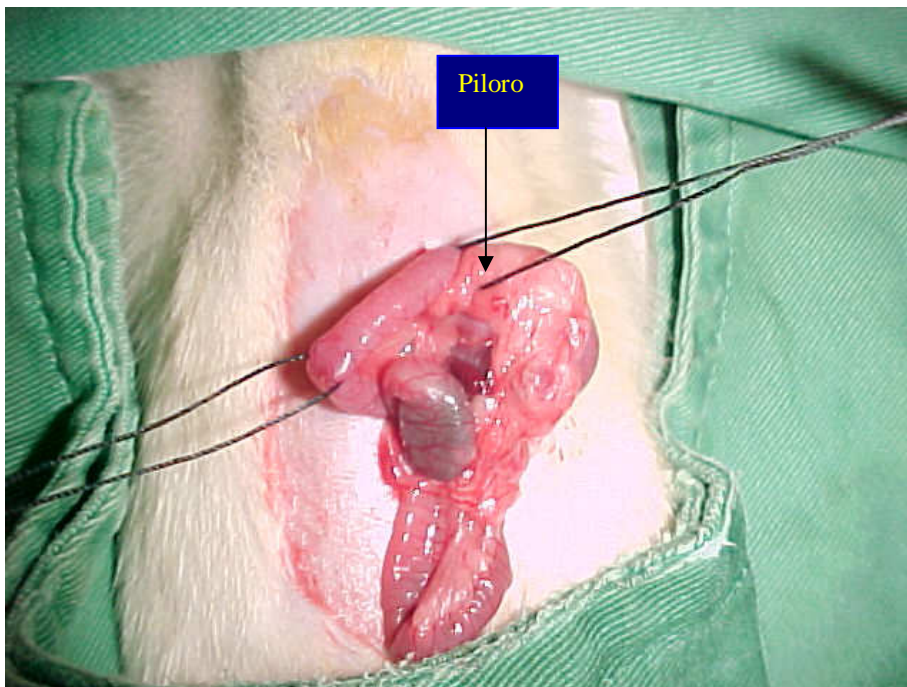


Figura nº 10 : Foto do rato nº 58, grupo C. Isolamento do duodeno.

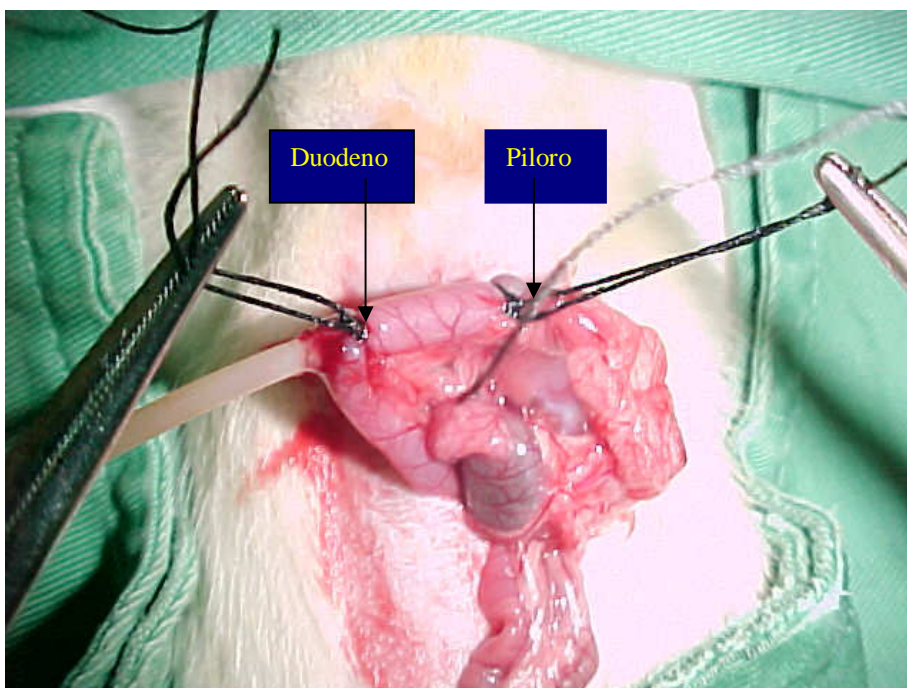


Figura nº 11: Foto do rato nº 58, grupo C. Reoperação. Fixação da sonda no duodeno(proximal e distal).

Por meio desta sonda, foi introduzido o contraste baritado. A injeção deste contraste foi realizada por gravidade através de coluna líquida de 45 cm de altura. Uma seringa de 10 ml, contendo solução de 4 ml de Bário e 4 ml de soro fisiológico foi acoplada à sonda de nelaton. A extremidade distal da sonda foi posicionada de modo vertical a 45 cm do animal. Esta solução foi introduzida no estômago por gotejamento espontâneo e gravitacional (figuras nº 12 e 13). Foram introduzidos 4 ml desta solução. As radiografias foram realizadas obedecendo à seqüência de contraste injetado (1,5 ml, 2ml, 3ml e 4ml). As radiografias foram analisadas por dois radiologistas, independentes, e foi verificada a presença ou não de Bário no esôfago e em qual região do esôfago.



Figura nº 12: Foto do rato nº 14, grupo A. instilação de Bário.

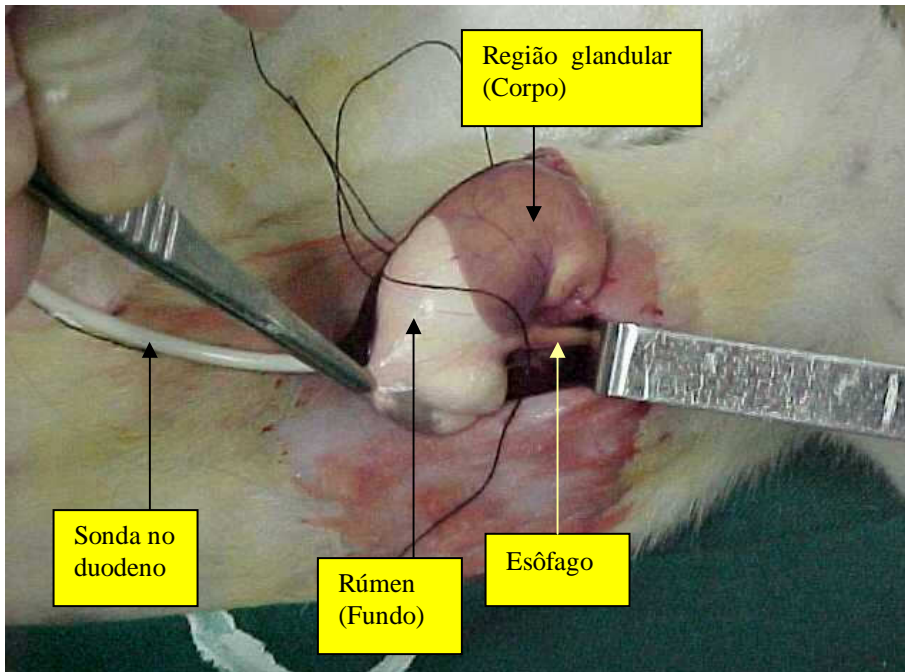


Figura nº 13: Foto do rato nº 14, grupo A. Reoperação. Presença de Bário no estômago e esôfago(desprovido de camada muscular). Anatomia do rato.

3.3.4.1.2. Estudo anátomo-patológico

Realizou-se a ressecção do esôfago que foi aberto sobre um isopor e feita avaliação macroscópica. A seguir a peça foi imersa em 10 ml de solução tamponada de formaldeído a 10%. Depois de fixada, foi colocada em blocos de parafina com a realização de cortes no microtomo de 3 micra e corados com Hematoxilina-Eosina (HE). Ao término dos procedimentos cirúrgicos, com os animais ainda anestesiados, foram submetidos a eutanásia, por meio da administração intracárdica de dosagem elevada dos anestésicos. O fechamento da parede abdominal foi similar ao descrito anteriormente. A presença de esofagite foi pesquisada conforme ficha em anexo (nº 3 e 4), obedecendo aos seguintes critérios

histopatológicos: alongamento da papila, hiperqueratose, hipergranulose, eosinófilos na JEG, congestão vascular, neoformação vascular, atrofia da muscular da mucosa e exocitose.

3.4.Planejamento Estatístico

A análise estatística foi efetuada por pesquisador independente. Foi utilizado o teste t *Student* para análise de variância entre os grupos.O intervalo de confiança calculado foi de 95%, com nível de significância de 5%. O valor de alfa(α) utilizado foi igual a 0,05 para rejeitar a hipótese de nulidade.

4. RESULTADOS

4.1. EVOLUÇÃO PÓS-OPERATÓRIA

Os procedimentos propostos foram realizados adequadamente, não apresentando dificuldade técnica. Os animais apresentaram boa cicatrização.

Nos animais submetidos à miectomia total, ocorreram 6 óbitos no pós-operatório tardio (2^a e 3^a semanas de pós-operatório), sendo excluídos do estudo, pois não conseguiram completar os 30 dias.

Em um desses animais foi possível a realização de autópsia(figura nº 14). Por meio deste procedimento foram identificadas fibras provenientes de alimentos no interior dos alvéolos.



Figura nº 14: Fotomicrografia do pulmão de rato submetido à autópsia, três semanas após a realização de miectomia total. Estudo histológico corado por HE. Pneumonia aspirativa: presença de células gigantes (seta amarela) e resíduos de alimentos (seta preta) adjacente à parede alveolar. 400x.

4.1.1. AVALIAÇÃO DA PERDA PONDERAL

O peso dos animais variou entre 222,5g e 397g antes da primeira operação.

Os resultados estão apresentados em forma de Tabelas(I, II, III, IV e V).

Tabela I. Ratos do grupo A em relação ao peso(em gramas) antes da primeira e segunda operação

Discriminação	Antes da 1ª operação	Antes da 2ª operação
Média	293,5	266,8
Desvio padrão	31,3	45,2
Peso máximo	362,5	358,5
Peso mínimo	222,5	196,5

Tabela II. Ratos do grupo B em relação ao peso(em gramas) antes da primeira e segunda operação

Discriminação	Antes da 1ª operação	Antes da 2ª operação
Média	277,6	296,6
Desvio padrão	23,0	23,1
Peso máximo	311,0	339,9
Peso mínimo	229,5	249,8

Tabela III. Ratos do grupo C em relação ao peso(em gramas) antes da primeira e segunda operação

Discriminação	Antes da 1ª operação	Antes da 2ª operação
Média	283,9	305,2
Desvio padrão	44,5	42,0
Peso máximo	397,0	412,5
Peso mínimo	235,0	252,0

Tabela IV. Ratos em relação a avaliação ponderal(em gramas) antes da segunda operação

Discriminação	Grupos		
	A	B	C
Média	266,8	296,6	305,2
Desvio padrão	45,2	23,1	42,0

Tabela V. Ratos em relação a perda ponderal

Grupos	Emagreceu	Não Emagreceu
A	16 (0,800)	04 (0,200)
B	03 (0,150)	17 (0,850)
C	02 (0,100)	18 (0,900)

O grau de liberdade(gl) foi de 38. O valor do teste estatístico(t) foi de 0,18 na comparação entre os grupos A e B. Entre A e C o t foi de 0,19 e entre B e C o t foi de -0,05.

Baseado no intervalo crítico entre -1,68 e + 1,68 afirmamos que não ocorreu diferença de peso entre os três grupos, pois o t correspondeu a este intervalo.

4.1.2. ESTUDO RADIOLÓGICO

No grupo A, em 14 animais, (70%), notou-se Bário no esôfago, caracterizando refluxo (figura 15 e 16).

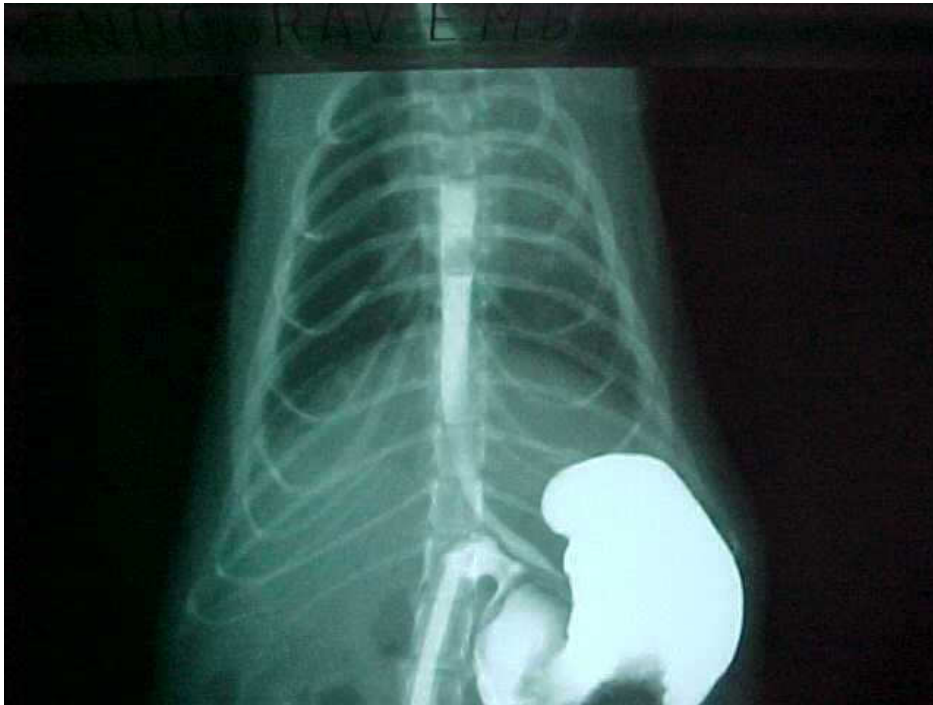


Figura nº 15 : Foto do rato nº 14, grupo A. Rx mostrando a presença de Bário na JEG e no esôfago.



Figura nº 16 : Foto do rato nº 09, grupo A. Rx mostrando a presença de Bário no esôfago, após a instilação de 4ml de contraste.

No grupo B, o refluxo ocorreu em 7 animais, (35%) , e no grupo C , em 2 animais (10%). Nos demais animais não ocorreu refluxo como documentado na figura 17 (tabela VI).

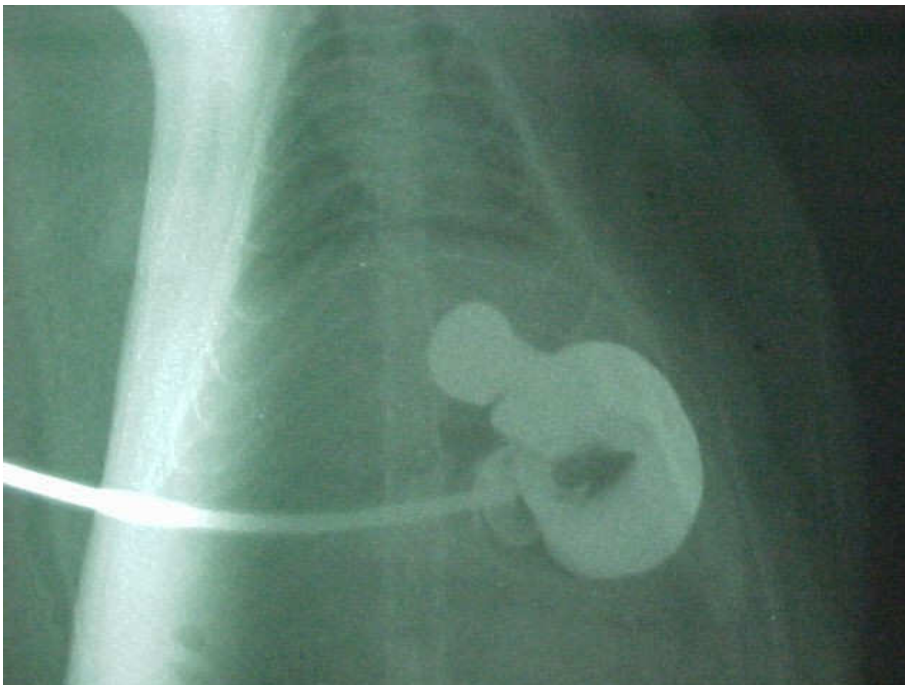


Figura nº 17 : Foto do rato nº 41, grupo C. Rx contrastado. Ausência de Bário no esôfago, após a instilação de 4ml de contraste.

Tabela VI. Avaliação do refluxo gastroesofágico pela presença de Bário no esôfago

Grupos	Presença de Bário no esôfago	Ausência de Bário no esôfago	Total
Grupo A	14 ratos (0,700)	06 ratos (0,300)	20 ratos
Grupo B	07 ratos (0,350)	13 ratos (0,650)	20 ratos
Grupo C	02 ratos (0,100)	18 ratos (0,900)	20 ratos

Em relação ao refluxo de Bário para o esôfago, na comparação entre os grupos A, B e C, observamos que o refluxo predominou em A(0,700) em relação a B(0,350) e C(0,100). O nível de significância foi igual a 5%. O grau de liberdade(gl) foi de 19 e o t crítico(tc) foi igual a 1,729. O desvio padrão foi de 0,148 quando comparamos o grupo A com o

B. O resultado do teste estatístico entre A e B foi igual a 2,36. Este número foi superior ao tc. Baseado nestes dados, podemos afirmar que a probabilidade de ocorrer refluxo com a técnica operatória, empregada em A, foi significativamente maior que o procedimento realizado em B.

Na comparação entre os grupos A e C, observamos que o refluxo predominou no grupo A(0,700) em relação ao grupo C(0,100). O gl foi de 19 e o tc foi igual a 1,729. O desvio padrão foi de 0,155. O resultado do teste estatístico entre A e C foi equivalente a 3,87. Este número foi superior ao tc. Baseado nestes dados, podemos afirmar que a probabilidade de ocorrer refluxo em A foi significativamente superior à ocorrência de refluxo em C.

Na comparação entre os grupos B(0,350) e C(0,100), observamos que o refluxo esofágico não predominou no grupo B. O gl foi de 19 e o tc foi semelhante a 1,729. O desvio padrão foi de 0,157. O resultado do teste estatístico entre B e C foi 1,59. Este número foi inferior ao tc. Observou-se que não houve diferença significativa na incidência de refluxo esofágico quando comparamos os animais dos grupos B e C.

4.1.3. ESTUDO ANÁTOMO-PATOLÓGICO

Os animais dos grupos A e B, apresentaram aderências (figuras nº 18 e 19) envolvendo o fígado e o esôfago. As aderências se localizavam na superfície do esôfago que estava desprovida de camada muscular, principalmente no grupo A.

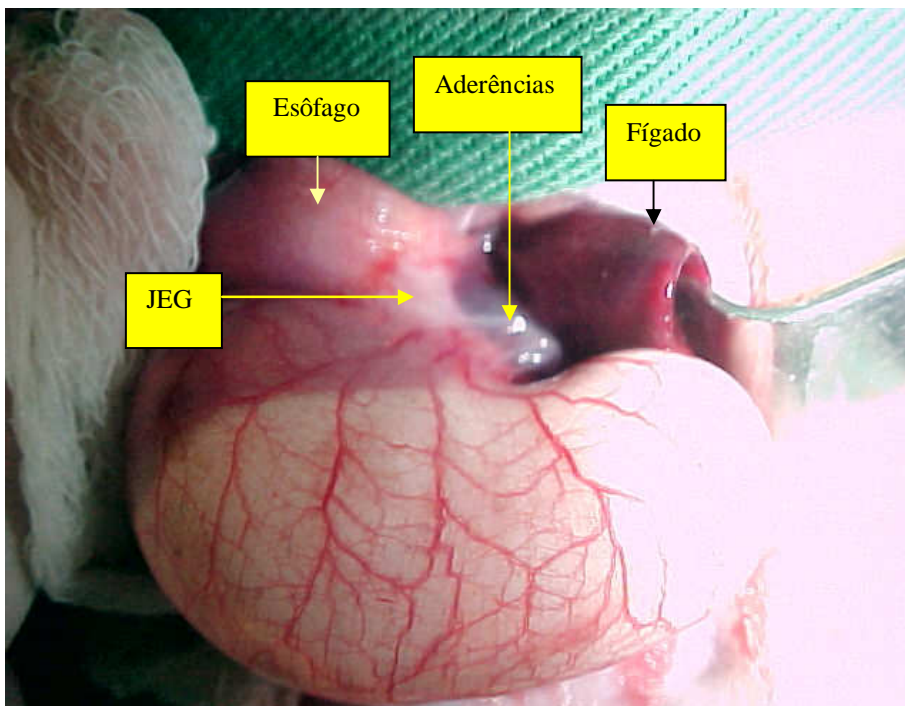


Figura nº 18 : Foto do rato nº 22, grupo B. Reoperação. Aderências.

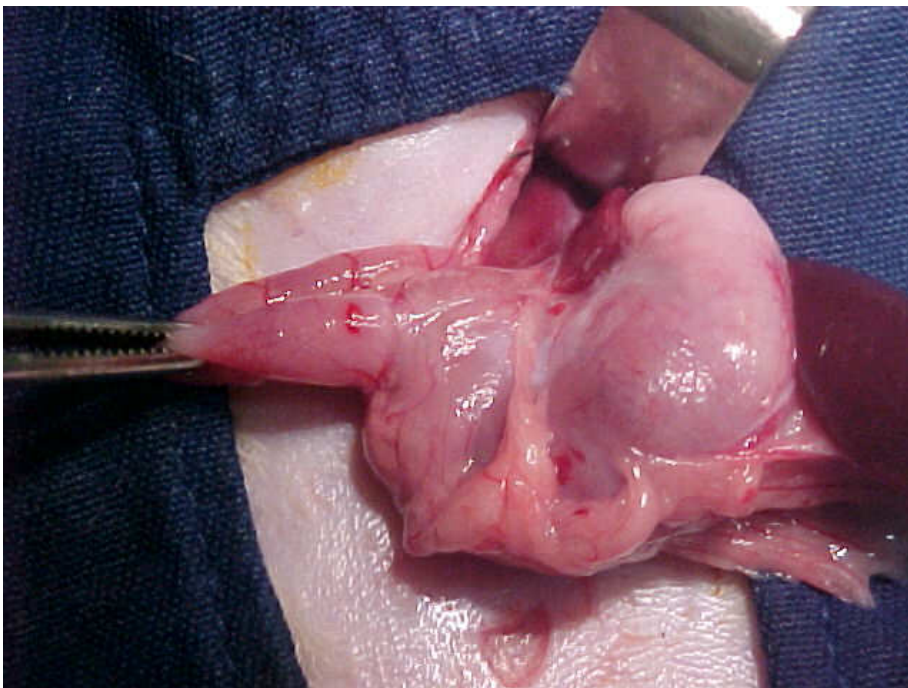


Figura nº 19. Foto do rato nº 06, grupo A. Reoperação. Aderências envolvendo o fígado, esôfago e estômago. Duodeno tracionado por meio de pinça.

Não ocorreram alterações macroscópicas na mucosa do esôfago como ulcerações, papilomatose, espessamento e estenose, nos animais dos grupos A, B e C (figura nº 20).

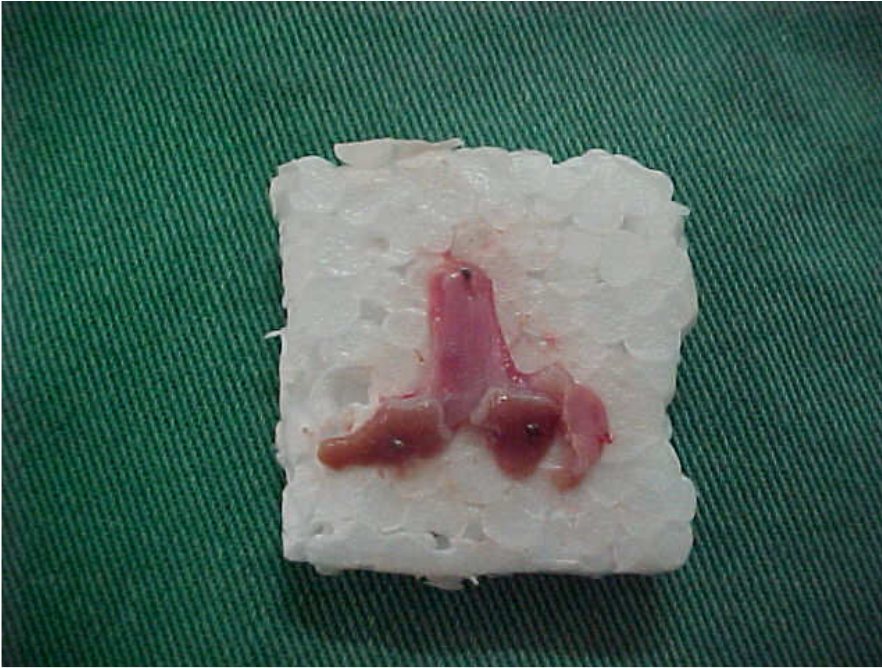


Figura nº 20 : Foto do Rato nº 51, grupo C. Macroscopia do esôfago.

O estudo histológico da camada muscular do esôfago nos animais dos grupos A e B que foi ressecada durante o primeiro procedimento, confirmou a presença de tecido muscular. Foi observada a presença de filetes nervosos na camada muscular (figura nº 21).

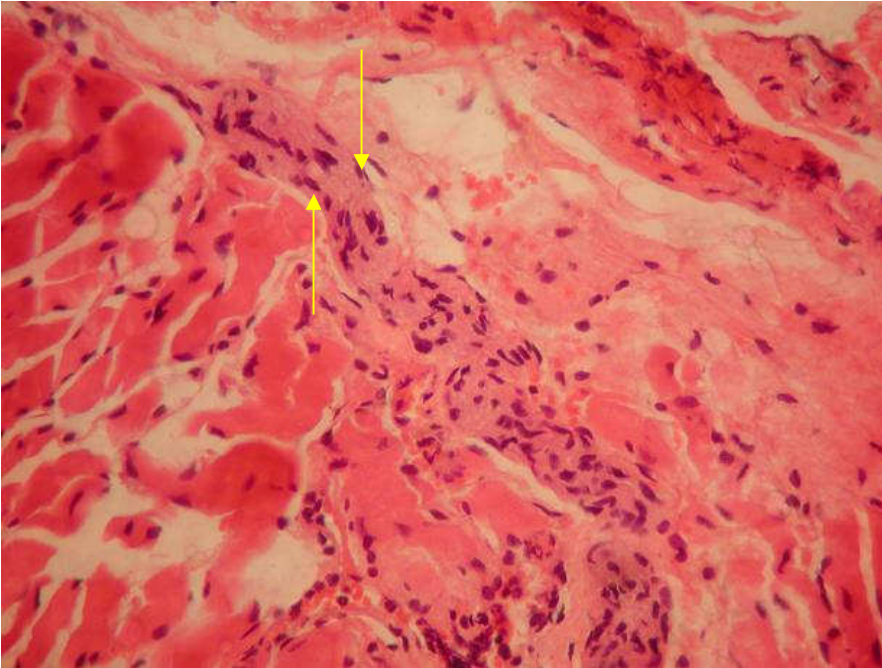


Figura nº 21: Fotomicrografia do rato nº 09, grupo A. Estudo Histológico corado por HE. Presença de filete nervoso(setas) na camada muscular que envolve o esôfago. 100x.

O estudo histológico do esôfago no grupo A, mostrou a predominância das seguintes alterações: alongamento da papila, hiperqueratose, hipergranulose, eosinófilos na JEG, congestão vascular, neoformação vascular, atrofia focal da muscular da mucosa, exocitose. A associação de várias destas alterações histológicas, sugerem a presença de esofagite em ratos. Neste grupo, a atrofia focal da camada muscular da mucosa ocorreu em 11 (55%) ratos, A exocitose estava presente em 6 (30%) animais (figuras 22, 23, 24, 25, 26 e 27).

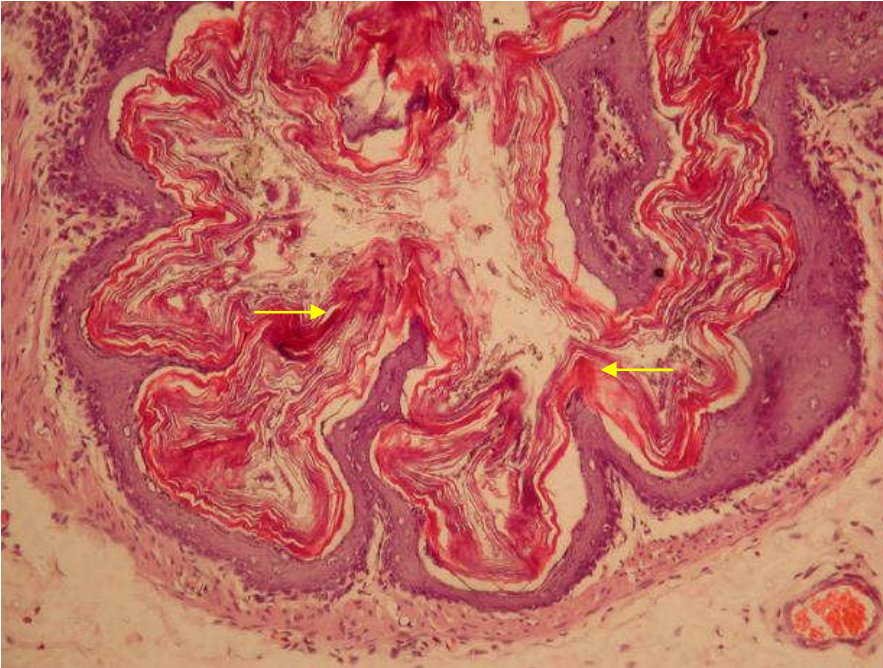


Figura nº 22: Fotomicrografia do rato nº 08, grupo A. Estudo histológico do esôfago corado por HE. Presença de hiperqueratose exuberante(setas). 5x.

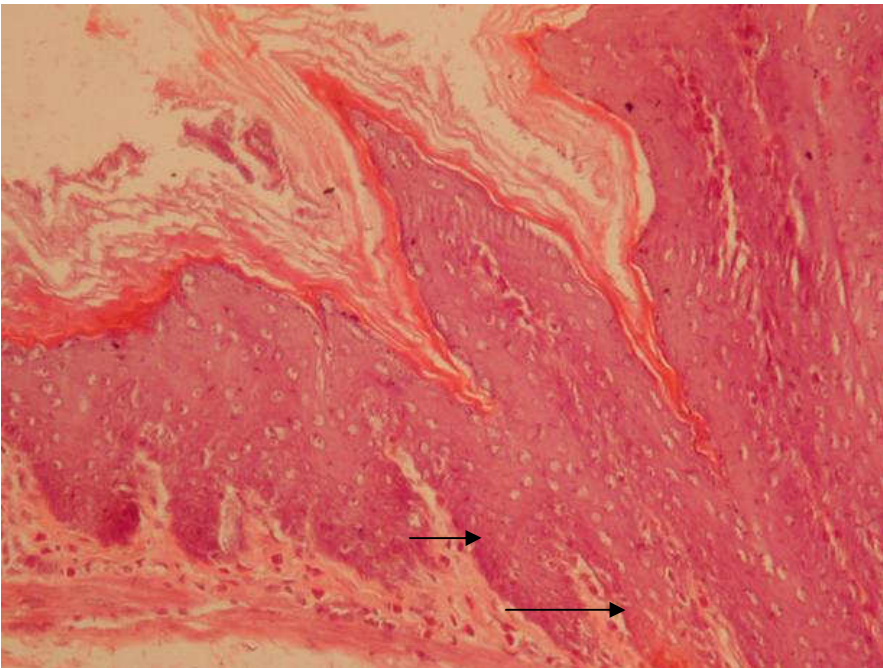


Figura nº 23: Fotomicrografia do rato nº- 12, grupo A. Presença de hiperqueratose, alongamento da papila e papilomatose(setas). Coloração com HE. 10x.

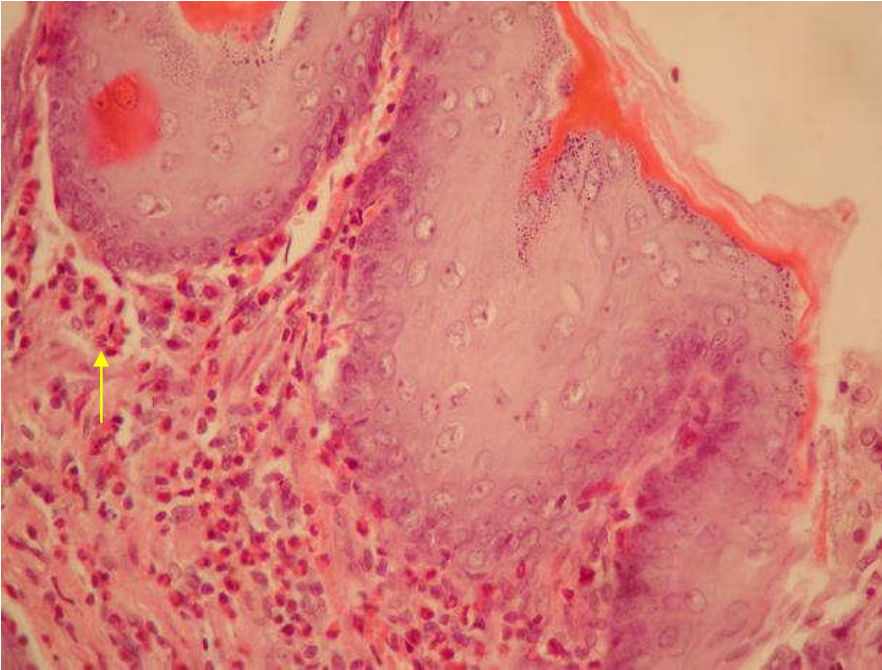


Figura nº 24: Fotomicrografia do rato nº 10, grupo A. Estudo histológico do esôfago. Presença de eosinófilos(seta). Coloração por HE. 40x.

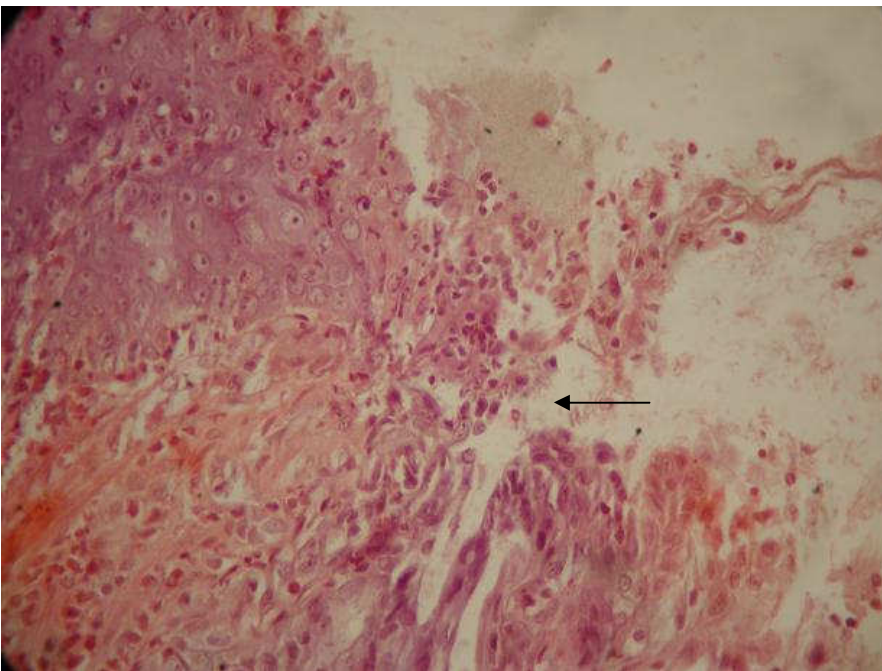


Figura nº 25: Fotomicrografia do rato nº 20, grupo A. Estudo Histológico do esôfago. Presença de erosão(seta). Coloração pela HE. 40x.

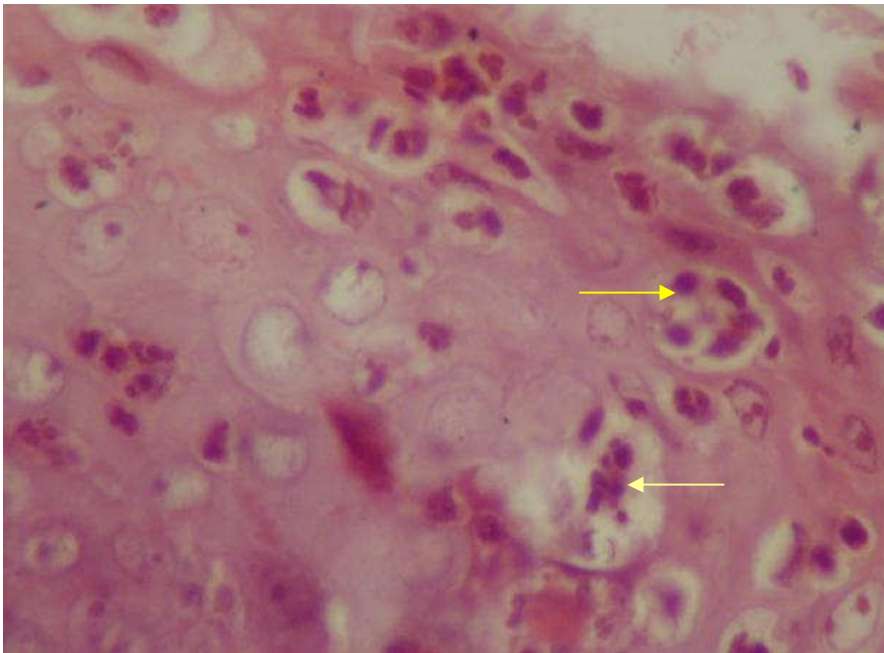


Figura nº 26: Fotomicrografia do rato nº 17, grupo A. Estudo histológico do esôfago. Presença de exocitose(setas). Coloração por HE. 100x

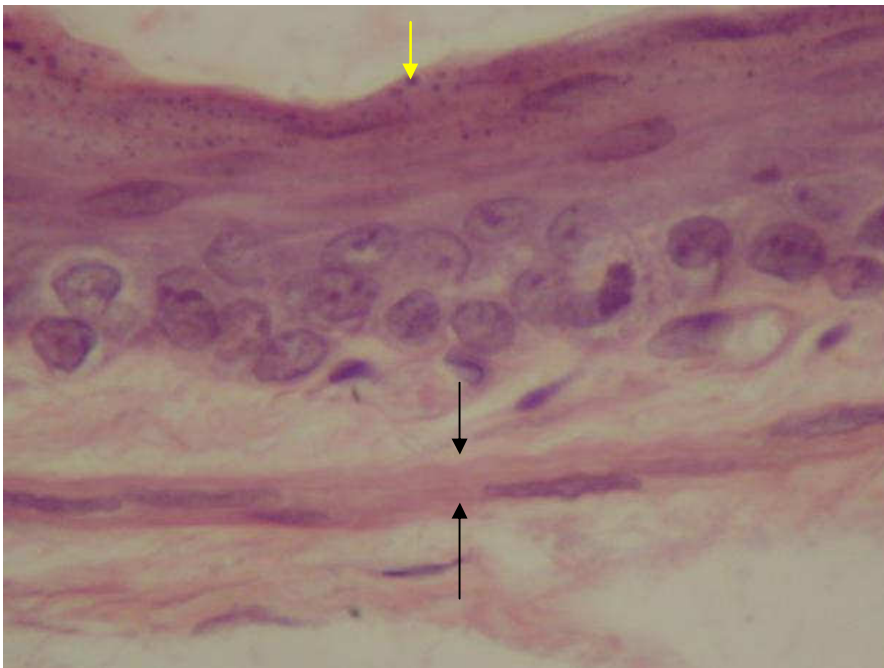


Figura nº 27 : Fotomicrografia do rato nº 16, grupo A. Estudo histológico do esôfago corado por HE.Presença de hipergranulose(seta amarela). Atrofia focal(setas pretas) da camada muscular da mucosa. 40x.

No grupo B, o estudo histológico do esôfago no trigésimo dia de pós-operatório, apresentou atrofia da camada muscular da mucosa em 5 (25%) animais. A exocitose ocorreu em 12 (60%) ratos.

No grupo C, o estudo histológico do esôfago no trigésimo dia de pós-operatório, mostrou atrofia da camada muscular da mucosa em 5 (25%) animais e exocitose em 7 (35%) animais.

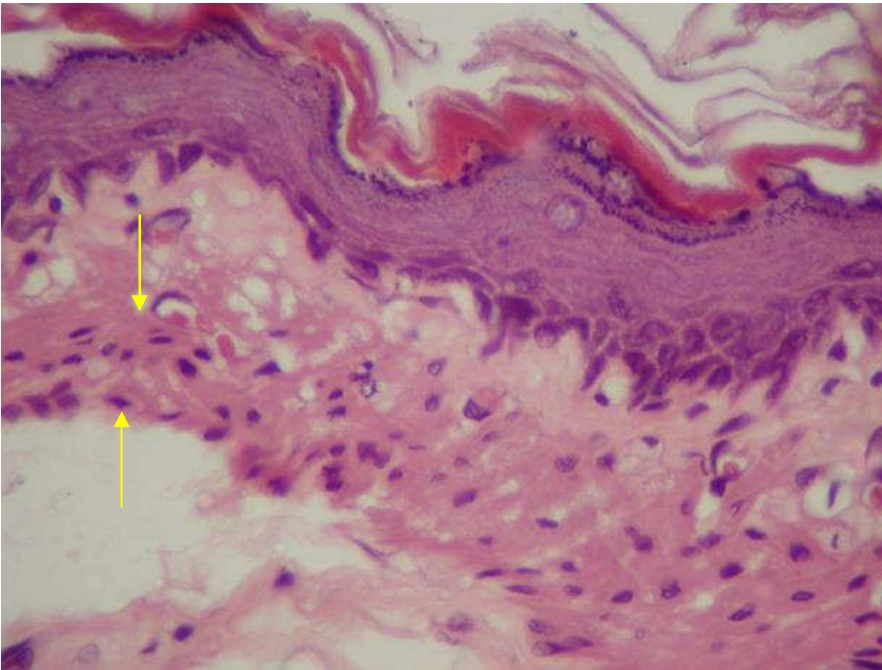


Figura nº 28: Fotomicrografia do rato nº. 48, grupo C. Estudo histológico do esôfago corado por HE. Camada muscular da mucosa normal(setas).10x.

Os resultados estão apresentados nas Tabelas X, XI, XII, XIII.

Tabela X. Alterações histológicas observadas no trigésimo dia no esôfago dos animais, segundo os grupos A, B e C

Alterações histológicas	A	B	C
Alongamento da papila	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)
Hiperqueratose	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)
Hipergranulose	20 (100%)	20 (100%)	20 (100%)
Eosinófilos na JEG	18 (90%)	18 (90%)	19 (95%)
Congestão vascular	14 (70%)	5 (25%)	14 (70%)
Neoformação vascular	19 (95%)	20 (100%)	19 (95%)
Atrofia da muscular da mucosa	11 (55%)	5 (25%)	5 (25%)
Exocitose	6 (30%)	12 (60%)	7 (35%)

A análise estatística não apresentou diferença entre os grupos.

Tabela XI. Ratos do grupo A em relação aos critérios de esofagite

+ : presente - : ausente

RATO Nº	Alongamento da papila	Hiperqueratose	Hipergranulose	Eosinófilos na JEG	Congestão vascular	Neoformação vascular	Atrofia da muscular da mucosa	Exocitose
1	+	+	+	+	-	+	-	+
2	+	+	+	+	+	+	+	-
3	+	+	+	+	+	+	-	-
4	+	+	+	+	+	+	+	-
5	+	+	+	+	+	+	+	-
6	+	+	+	+	+	+	+	-
7	+	+	+	+	+	+	+	-
8	+	+	+	+	+	+	-	-
9	+	+	+	+	+	+	+	-
10	+	+	+	+	+	+	+	-
11	+	+	+	+	+	-	-	+
12	+	+	+	-	+	+	-	-
13	+	+	+	+	-	+	-	+
14	+	+	+	+	-	+	+	-
15	+	+	+	+	-	+	-	+
16	+	+	+	+	+	+	-	-
17	+	+	+	+	+	+	-	-
18	+	+	+	-	+	+	+	-
19	+	+	+	+	-	+	+	+
20	+	+	+	+	-	+	+	+

Tabela XII. Ratos do grupo B em relação aos critérios de esofagite

RATO Nº	Alongamento da papila	Hiperqueratose	Hipergranulose	Eosinófilos na JEG	Congestão vascular	Neofor- Ãação vascular	Atrofia da muscular da mucosa	Exocitose
21	+	+	+	+	+	+	+	+
22	+	+	+	+	-	+	-	-
23	+	+	+	+	-	+	-	-
24	+	+	+	+	+	+	-	-
25	+	+	+	+	+	+	+	+
26	+	+	+	+	-	+	-	-
27	+	+	+	+	-	+	-	+
28	+	+	+	+	-	+	-	+
29	+	+	+	-	-	+	-	-
30	+	+	+	+	-	+	-	-
31	+	+	+	+	-	+	-	+
32	+	+	+	+	-	+	-	+
33	+	+	+	+	-	+	-	+
34	+	+	+	+	-	+	+	+
35	+	+	+	+	-	+	+	+
36	+	+	+	-	+	+	+	-
37	+	+	+	+	+	+	-	+
38	+	+	+	+	-	+	-	-
39	+	+	+	+	-	+	-	+
40	+	+	+	+	-	+	-	+

5. DISCUSSÃO

5.1. DISCUSSÃO DO MÉTODO

Com o objetivo de investigar a ocorrência de refluxo gastroesofágico, foi desenvolvido modelo experimental em ratos, distribuídos em 3 grupos, que foram avaliados por meio de estudos radiológico e histológico do esôfago.

A escolha do rato possibilitou aumentar o tamanho da amostra por ser um animal de pequeno porte. A criação e manutenção destes animais são mais fáceis, assim como o desenvolvimento de procedimentos. O custo e o tempo operatório são menores em relação aos animais de grande porte.

Para tornar a amostra uniforme, foram utilizados ratos da mesma raça, do mesmo sexo e com peso e idade aproximados.

A preferência, por ratos machos no presente trabalho, foi ocasionada pela dificuldade de conseguir animais, necessitando preservar fêmeas para procriação. O outro motivo foi relacionado à possibilidade da influência hormonal interferir nos resultados do trabalho.

No presente estudo, os ratos pesavam entre 222,5g e 397g no primeiro procedimento. Evitamos selecionar animais com peso abaixo de 200g, com a intenção de que o estado nutricional do animal não interferisse nos resultados.

No estudo de **LEVRAT(1962)**, os animais pesavam entre 150 e 250g. **SALMON(1981)** avaliou ratos com peso entre 300 e 380g.

Estudaram-se 60 animais. O número de animais foi satisfatório, conforme análise estatística. O tempo de avaliação entre o primeiro e o segundo procedimento foi de 30 dias. Este período foi suficiente para o aparecimento de refluxo gastroesofágico neste modelo experimental.

Nos modelos propostos por **HELSINGEN(1959)** e **MUD(1982)**, a duração do estudo foi de 17h e 7 dias, respectivamente, e de 4h no experimento desenvolvido por **INATOMI(1991)**. O número de ratos foi variável nos trabalhos consultados. **LEVRAT(1962)** observou vários grupos de ratos, totalizando 70 ratos. **MUD(1982)** e **INATOMI(1991)** estudaram 129 e 10 ratos, respectivamente.

No presente estudo, foi utilizado cloridrato de xilazina a 2% e cloridrato de cetamina, injetados na cavidade peritoneal. A técnica de anestesia foi considerada adequada no nosso experimento.

HELSINGEN(1959 e 1960) utilizou éter e álcool como anestésicos em ratos. **MUD(1982)**, **INATOMI(1991)** e **PERA(1998)** usaram éter como anestésico em ratos. **ISHII(1981)**, **NAKAMURA(1982)**, **KOBORI(1993)** e **OMURA(1999)**, usaram anestesia intraperitoneal com pentobarbital em ratos. **SALMON(1981)** utilizou anestesia geral com nembutal em ratos. **WIXSON(1987)** utilizou cloridrato de cetamina associado ao cloridrato de xilazina injetados intraperitonealmente em ratos.

A ausência de antibiótico profilático no presente modelo se baseou na pouca possibilidade de provocar infecções. A região a ser explorada foi considerada limpa e o tempo operatório curto.

O uso de antibiótico foi utilizado por **SALMON(1981)** e **KOBORI(1993)**. A via de administração foi o subcutâneo de ratos.

O adiamento do início da dieta sólida esteve relacionado à mortalidade aumentada no grupo de animais submetidos à miectomia total, na fase do projeto-piloto. Os animais, deste grupo, regurgitavam a ração com frequência.

A dipirona foi utilizada sob a apresentação em gotas, para diminuir a dor pós-operatória, no espaço de tempo compreendido entre o final da operação e o sétimo dia de pós-operatório.

Na literatura pesquisada, não encontramos relato do uso de analgésico no pós-operatório.

No presente estudo experimental, foi realizada a miectomia total (com inclusão do nervo vago) e parcial(preservando o nervo vago) no esôfago abdominal de ratos, com o objetivo de desenvolver um modelo experimental de RGE em animais de pequeno porte, preservando a anatomia dos órgãos envolvidos. Não ocorreram dificuldades técnicas para a realização da miectomia total e parcial. A presença de filetes nervosos pôde ser comprovada durante o estudo histológico da camada muscular ressecada. Nos animais do grupo A, o piloro foi desnervado devido à realização de vagotomia troncular durante a miectomia total. Ocorreu dilatação gástrica acentuada, com presença de quantidade elevada de

resíduos alimentares, durante a reoperação. Este fato pode ser secundário ao retardo do esvaziamento gástrico, provocado por meio de vagotomia. A vantagem deste modelo é que proporciona no futuro o emprego de novas técnicas operatórias anti-refluxo, assim como a administração de novas drogas terapêuticas. Outras vantagens do modelo desenvolvido, neste experimento, são : menor tempo operatório, não necessitando da realização de anastomoses no sistema digestório; menor tempo anestésico, facilitando a recuperação precoce dos animais; menor morbidade e mortalidade, proporcionando o melhor aproveitamento do animal e evitando atrasos na pesquisa; pode ser realizado em Centros Universitários, desprovidos de avançadas tecnologias.

Nos modelos desenvolvidos por **HELSINGEN(1959 e 1960)**, **LEVRAT(1962)**, **LAMBERT(1962)**, **SALMON(1981)**, **ISHII(1981)**, **MUD(1982)** e **PERA(1988)**, ocorreram modificações anatômicas por meio da realização de anastomoses no sistema digestório. Os modelos, publicados por estes autores, não conseguiram reproduzir em animais de pequeno porte, o RGE, relacionado, exclusivamente, com a não funcionalidade do cárdia, como ocorre em humanos. Os estudos destes autores não tiveram aplicabilidade para avaliar a eficácia terapêutica de drogas com o objetivo de reduzir a acidez gástrica e o RGE, respectivamente, em animais gastrectomizados previamente.

O presente experimento procurou avaliar a importância da destruição da JEG e do terço inferior do esôfago, como causa do RGE,

por meio da miectomia total e parcial. Os trabalhos publicados por **KARAS(1996)** e **CREMA(1998)** colaboraram com o presente experimento. Estes autores desenvolveram modelos de esofagite de refluxo em macacas e cães, respectivamente, por meio de cardiomiectomia. Por outro lado, **SMIDDY(1960)** realizou uma cardiomiectomia, em cães, concluindo que a miectomia não interferiu em facilitar o refluxo no cárdia.

O presente modelo experimental, não utilizou drogas indutoras de esofagite. Procurou provocar esofagite, interferindo em umas das barreiras contra o refluxo gastroesofágico, objetivando aproximar as alterações fisiopatológicas como as que ocorrem em humanos.

KOBORI(1993) desenvolveu modelo de refluxo por meio de gastrectomia total e anastomose esôfago-jejunal. Acrescentou a ingestão de ácido Hidroclórico. As desvantagens do estudo de **KOBORI** em relação ao presente experimento são a utilização de drogas indutoras de esofagite associada à modificação anatômica do sistema digestório.

No presente trabalho, o estudo radiológico com contraste foi realizado por meio da introdução de sonda no duodeno. A sonda foi posicionada em direção ao piloro, evitando o contato desta com o estômago. Foi realizada uma fixação proximal na sonda e outra distal, para impedir o refluxo de contraste para o duodeno e fixá-la, respectivamente. A quantidade de contraste(diluído), utilizada, no estudo, foi de 4 ml. Este volume foi suficiente para provocar distensão gástrica, testar a funcionalidade da

JEG e permitir o fluxo do contraste por meio de gotejamento espontâneo e gravitacional, após ser introduzido no duodeno. A diluição na proporção de 1:1 manteve um bom padrão radiológico. O objetivo do presente trabalho foi evitar que a pressão exercida sobre o êmbolo da seringa interferisse nos resultados. A desvantagem do modelo desenvolvido por **HELSINGEN(1959)** em ratos, em relação ao presente experimento, foi que o fluxo do contraste ficou próximo ao esôfago, devido à realização das anastomoses esofagojejunal e esofagoduodenal. Outra desvantagem, observada no experimento de **HELSINGEN**, foi a introdução do contraste por meio de injeção.

O presente experimento tentou reproduzir uma das causas do refluxo gastroesofágico, interferindo no cárdia. Proporcionou a avaliação de longo prazo do RGE.

FERGUSON(1950) desenvolveu modelo em ratos e outras espécies de animais com a oclusão do duodeno abaixo do piloro, associado à administração de histamina. **NAKAMURA(1982)**, **INATOMI(1991)**, e **OMURA(1999)**, desenvolveram modelos experimentais de esofagite de refluxo, do tipo ácida e a crônica, por meio da oclusão do rúmen e da obstrução do piloro.

NAKAMURA(1982) baseou o seu estudo em modelos desenvolvidos, previamente, por **SHAY, SELYE e ITOO**. **SHAY E SELYE** ocluíram o piloro de ratos para provocar úlcera no esôfago. **SHAY E ITOO** confirmaram que esta alteração é decorrente do refluxo de suco gástrico. O

método da obstrução do piloro mostrou ser superior ao da aplicação de suco gástrico na mucosa esofágica para provocar lesão esofágica. A desvantagem, neste modelo, foi o número de casos para análise estatística e a dificuldade em obter taxas regulares de úlceras. **LUO** aprimorou o método da oclusão do piloro para obter um quadro uniforme de esofagite com elevado percentual. Desenvolveu úlcera severa 20h após a operação, destruindo o esfíncter inferior do esôfago por meio de incisão.

O modelo desenvolvido por **NAKAMURA et al** tem a desvantagem de provocar obstrução gástrica extrínseca(mecânica) em que vários fatores irão atuar prejudicando a análise da esofagite como causa de refluxo devido à compressão vascular associada à proliferação bacteriana, decorrente da obstrução gástrica. Outro fator é a retenção de suco gástrico que, normalmente, não ocorre. A obstrução do estômago que ocorreu nos modelos acima citados, dificulta a realização de técnica operatória(se for empregada). A segunda desvantagem no modelo de **NAKAMURA et al** foi a sobrevida curta dos animais, tendo, portanto, aplicabilidade difícil, pois provocou esofagite do tipo aguda e em prazo curto para avaliar o efeito terapêutico das drogas testadas.

No trabalho publicado por **MELO(1999)**, os ratos foram submetidos a cardioplastia e esofagoduodenostomia. O objetivo foi de induzir carcinogênese no esôfago por meio de droga. Não foi realizado o estudo radiológico neste experimento. Isto dificulta a afirmação da ocorrência de RGE no grupo de animais submetidos a cardioplastia. A presença de esofagite foi detectada em 5,5% dos animais deste grupo.

Ao observar os diferentes modelos experimentais para provocar refluxo esofágico em animais, foi constatada uma diferença. Nos modelos que alteraram a anatomia do sistema digestório, ocorreram alterações histológicas acentuadas. Utilizaram os modelos de anastomoses entre os órgãos do sistema digestório. As alterações histológicas, porém, não ocorreram na mesma intensidade, quando a técnica usada preservou a anatomia do sistema digestório. A miectomia, realizada no esôfago abdominal, foi exemplo de modelo experimental que provocou refluxo esofágico sem a ocorrência de esofagite. Alguns modelos de refluxo esofágico, desenvolvidos em animais, não apresentaram esofagite, conforme o trabalho publicado por **SMIDDY**.

HWANG(1946) desenvolveu modelo experimental em cães, com objetivo de investigar a influência neural no controle do esôfago e do cárdia. Concluiu que a simpatectomia não alterou o tônus do cárdia. A peristalse dos 2 / 3 inferiores do esôfago depende do suprimento vagal. O estudo de **CROSS(1951)** em cães avaliou a ação da bile e do suco pancreático na produção de esofagite. Concluiu que a esofagite pode ser provocada pela bile, suco pancreático ou a associação de ambos. **EVANDER(1987)** estudou em cães, a importância das secreções gástrica, duodenal-biliar-pancreática e a combinação delas na origem da esofagite de refluxo. Concluiu que a esofagite erosiva ocorreu somente com estimulação gástrica máxima na ausência de refluxo duodenogástrico.

SMIDDY(1960) desenvolveu modelo em cães, objetivando estudar os mecanismos que atuam na prevenção do refluxo gastroesofágico. Os

animais foram distribuídos em 3 grupos: cardiomiectomia; secção das fibras gástricas oblíquas; secção da crura diafragmática. A ausência de esofagite no trabalho do autor foi uma surpresa, porém isto não significa que não ocorreu refluxo, conforme os trabalhos de **RIPLEY** e **CODE**. O autor concluiu que nem a cardiomiectomia e nem a secção do diafragma, à esquerda, interferiram em facilitar o refluxo no cárdia. A secção das fibras gástricas oblíquas, entretanto, provocou a perda do ângulo agudo na entrada do esôfago com o estômago, resultando na presença de refluxo. **GREENWOOD(1962)** desenvolveu modelo experimental em cães treinados, para estudar o efeito da influência neural e da interrupção esofagiana no tonos do esfíncter. Concluiu que a inervação simpática não afeta o esfíncter inferior do esôfago.

CARVETH(1962) desenvolveu modelo experimental, em cães, para estudar a motilidade esofagiana. Realizou miomectomia(miectomia), vagotomia e frenicotomia, em diferentes grupos de animais.O objetivo foi de esclarecer controvérsia sobre a influência que a vagotomia exerce no cárdia. Concluiu que a vagotomia cervical provocou as maiores alterações no cárdia. No grupo submetido à miomectomia, a motilidade foi normal e a contração do esôfago foi reduzida no local da miomectomia. Não foi realizado estudo histológico.

O presente estudo, tem as vantagens de usar animal de pequeno porte; necessitar de menor estrutura e, provavelmente, com custo menor; o tempo operatório é, provavelmente menor, podendo vários animais serem operados no período; a anestesia foi intraperitoneal ao contrário da

geral em macacas e cães; a recuperação do animal da anestesia, a alimentação no pós-operatório e aferição do peso, proporcionam maior facilidade em atuar nestas fases; a ausência da necessidade de punção ou dissecação venosa facilitam os cuidados com estes animais e recomendam este modelo; o acesso aos animais foi mais fácil e a reprodução de ratos é mais precoce em relação aos animais de porte maior; o tempo de vida do rato é satisfatório para a duração da pesquisa; com morbidade e mortalidade menores, a perda dos animais também diminuiu, não atrasando a pesquisa; o tamanho da amostra é maior quando se utiliza animal de pequeno porte; o estudo radiológico em animais de pequeno porte pode ser realizado sem entubação oro-traqueal durante a anestesia, evitando a interferência da pressão exercida por meio da ventilação mecânica nos resultados.

5.2. DISCUSSÃO SOBRE MORTALIDADE

A taxa de mortalidade no presente experimento foi de 10% e incidiu no grupo submetido à miectomia total. Esteve relacionada à pneumonia aspirativa. Devido a este modelo experimental ser diferente dos outros modelos descritos na literatura, procurou-se substituir os animais mortos deste grupo, para que se obtivesse um número mais representativo e poder avaliar melhor os resultados da técnica proposta.

As perdas de animais foram de 13% no trabalho publicado por **LEVRAT(1962)**, com ratos. **LAMBERT(1962)** desenvolveu modelos complexos,

com mortalidade elevada no grupo submetido à anastomose esôfago-jejunal, associada à transposição da via biliar para o duodeno, próximo ao piloro. **MUD(1982)** em estudo experimental com ratos, obteve taxa de mortalidade de 17%. A mortalidade, devido à perfuração do rúmen e / ou do esôfago, foi de 20% do total de animais, no experimento de **NAKAMURA(1982)**. Em trabalho publicado por **OMURA(1999)**, a taxa de mortalidade variou de 0% a 50% nos grupos estudados.

O risco de infecção aumentou, nos modelos acima citados(abscesso na anastomose, abscesso mediastinal), principalmente, na presença de perfuração do esôfago, aumentando o número de perdas dos animais estudados.

5.3. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

No presente estudo, ocorreu emagrecimento acentuado no grupo de ratos submetidos à miectomia total(80%). Observamos a associação com regurgitação dos alimentos. Neste grupo, um animal apresentou perda de 107g do peso inicial. A análise estatística não mostrou diferença significativa relacionada à perda ponderal entre os três grupos. Apesar do resultado da análise estatística, este modelo ocasionou perda ponderal em 80% dos animais do grupo A, demonstrando que a técnica empregada, neste experimento, interferiu no estado nutricional dos ratos.

HELSINGEN(1959 e 1960) observou, em dois trabalhos publicados, que todos os ratos distribuídos em grupos diferentes

emagreceram. Os ratos recuperaram o peso duas semanas depois. **LAMBERT(1962)** observou que a média de perda ponderal foi de 18g durante 30 dias, no grupo de ratos em que ocorreu associação do refluxo de suco gástrico e pancreático para o esôfago.

No presente experimento, não observamos a recuperação do peso nestes animais, como ocorreu no modelo desenvolvido por **HELSINGEN**.

No presente trabalho, a presença de Bário no esôfago ocorreu em 70% dos ratos do grupo A e em 35% do grupo B, indicando que a miectomia total foi a técnica que mais produziu refluxo. O RGE foi, provavelmente, do tipo ácido(gástrico) e o crônico. Isto pode estar relacionado, proporcionalmente, à extensão maior da área ressecada na camada muscular do terço inferior do esôfago associada à realização de vagotomia troncular.

No experimento de **HELSINGEN(1959)**, ocorreu regurgitação do contraste injetado no intestino para o esôfago nos ratos submetidos à esofagojejunostomia e esofagoduodenostomia. O terceiro grupo de ratos avaliado pelo estudo radiológico contrastado foi submetido à pilorectomia. Nestes animais, a regurgitação de contraste para o esôfago foi ausente.

O esôfago do rato é formado por epitélio escamoso estratificado(**HELSINGEN,1959**). Este epitélio é idêntico ao do rúmen no estômago. A camada muscular da mucosa e a camada muscular que envolve o esôfago são bem desenvolvidas. A camada muscular, que recobre

o esôfago, é composta de músculo estriado. A camada de queratina apresenta espessura mediana.

O desenvolvimento de esofagite, em ratos, está relacionada a várias alterações na microscopia. O alongamento da papila(hiperplasia) está presente na esofagite. A hiperplasia é provocada por meio do aumento da espessura do epitélio e da elevação do número de queratinócitos. A hipergranulose é um processo reativo, caracterizada pelo aumento da queratinização. O aumento de queratinócitos precede a queratinização. A presença de eosinófilos, na lâmina própria, está inclusa nos critérios utilizados para diagnosticar esofagite. A exocitose significa ocorrência de resposta inflamatória intensa. É caracterizada por meio da presença de células inflamatórias(eosinófilos, linfócitos) no tecido. Estas células, normalmente, estão localizadas no interior dos vasos sanguíneos. A atrofia da camada muscular da mucosa é demonstrada no estudo histológico, por meio da diminuição do número de fibras musculares. Como conseqüência, o esôfago tem o tonos muscular diminuído. Estas alterações estão associadas à esofagite em ratos.

LAMBERT(1962) estabeleceu os critérios macroscópicos e microscópicos para esofagite em ratos. A esofagite moderada foi caracterizada pela presença de lesão descamativa leve no epitélio superficial e ulceração sem associação com hiperplasia. Na esofagite grave, ocorreu reação hiperplásica e a ulceração. Na microscopia observou a presença das seguintes alterações: ulceração, hiperplasia epitelial com hiperqueratose,

reação inflamatória na submucosa com infiltração de polimorfonuclear e linfócitos.

No presente modelo, ocorreram alterações compatíveis à esofagite, mesmo no grupo controle. Os resultados do estudo anátomo-patológico para avaliação de esofagite em ratos são controversos, consoante demonstraram o presente trabalho e outros trabalhos publicados na literatura(**NAKAMURA, OMURA**).

Nos modelos desenvolvidos por **LAMBERT**, a presença de esofagite variou de 28% a 79% após a realização de modificação anatômica no sistema digestório, permitindo o refluxo de secreções originárias do estômago, duodeno, jejuno, pâncreas e via biliar para o esôfago por tempo prolongado. Concluiu que a esofagite em ratos com esofagojejunostomia é provocada por meio do refluxo biliar e pancreático. O suco pancreático parece ser o responsável por esse tipo de esofagite, embora a bile sozinha não cause esofagite, todavia ela parece potencializar a ação do suco pancreático.

No presente experimento, a dilatação do esôfago foi observada no grupo de ratos submetidos à miectomia total. A dilatação foi provocada, provavelmente, por meio da ressecção da camada muscular do esôfago abdominal, diminuindo o tonus do esôfago e permitindo a passagem lenta dos alimentos pelo esôfago. Este fato pode ter associação com o retardo do esvaziamento gástrico decorrente da vagotomia. Ocorreram hiperplasia e hiperqueratose no grupo controle do presente trabalho.

No trabalho de **HELSINGEN(1959)**, a macroscopia mostrou a presença de espessamento, irregularidade da mucosa e dilatação do esôfago dos ratos. Na microscopia observou, também, hiperemia, hemorragias múltiplas, edema e infiltração de neutrófilos no esôfago de ratos submetidos a operações complexas. A reação inflamatória foi considerada intensa. Foi constatada a ocorrência de necrose nos 4 animais que apresentaram perfuração do esôfago. Estes animais foram submetidos à gastrectomia total, associada à esofagojejunostomia. Nos animais observados por 28 dias, foi constatada a presença de hiperqueratose, destruição epitelial, hiperplasia leve e aumento do número de células epiteliais. O autor sugeriu que a bile e o suco pancreáticos são fatores importantes no desenvolvimento de um modelo de esofagite após gastrectomia. Concluiu que o refluxo do conteúdo intestinal, dentro do esôfago, provocado após gastrectomia total, é a causa de esofagite erosiva.

Em outro estudo, **HELSINGEN(1960)** adotou classificação patológica para avaliar o desenvolvimento de esofagite em ratos. No grupo dos ratos, submetidos à anastomose esofagoduodenal, ocorreram hiperplasia e hiperqueratose acentuada nos 2 / 3 inferiores do esôfago. Concluiu que a ocorrência de esofagite, após gastrectomia, depende do tipo de reconstrução empregada. A hiperplasia epitelial e a hiperqueratose somente aparecem em animais com esofagite.

No presente trabalho, não foi observada a presença de lesões papilomatosas e condilomatosas associada à obstrução esofágica.

LEVRAT(1962) encontrou acentuada dilatação do esôfago na metade inferior e, em alguns animais, o diâmetro foi equivalente ao de uma caneta. A presença de hiperplasia com lesões papilomatosas e condilomatosas que obstruía parcialmente a luz do esôfago foi outro achado no trabalho deste autor. Ulceração estava associada a lesões hiperplásicas. As lesões se estendiam do local da anastomose intestinal até a região cervical inferior do esôfago. **LEVRAT(1962)** estabeleceu a cronologia da lesão esofágica baseada nos achados histológicos de modelo experimental desenvolvido por esse autor. Concluiu que a reação hiperplásica desenvolve-se após o aparecimento de ulcerações na mucosa. Na microscopia, apareceram hiperplasia(3 a 4 vezes mais acentuada que o normal) associada à hiperqueratose, ulceração e processo inflamatório por meio da infiltração de polimorfonucleares e linfócitos na mucosa e submucosa. O autor concluiu que a esofagite de refluxo se desenvolve em ratos, quando ocorre refluxo do conteúdo duodenal para o esôfago. A secreção biliopancreática é um fator de injúria e o suco pancreático é menos importante que a bile como causa de esofagite de refluxo. A secreção ácida(gástrica) não produziu esofagite.

A macroscopia, no presente estudo, não evidenciou lesões significativas na mucosa do esôfago, exceto hiperemia leve.

INATOMI(1991) observou, na macroscopia, a presença de erosão em todas as áreas do esôfago torácico, 4h após a oclusão do piloro e do rúmen. A ocorrência de perfuração foi de 10%. Na avaliação histopatológica

do modelo experimental desenvolvido por **INATOMI**, alguns grupos de ratos apresentaram dissociação da camada córnea e congestão vascular.

No presente modelo, não ocorreu perfuração do esôfago, pois o objetivo foi desenvolver estudo experimental de RGE do tipo crônico, evitando compressão vascular e obstrução gástrica para os animais sobreviverem a curto, médio e longo prazo.

No experimento desenvolvido por **NAKAMURA(1982)**, a macroscopia mostrou presença de úlcera hemorrágica em todos os casos do grupo controle(água e suco gástrico injetados dentro do esôfago, na ausência de PANa e sem provocar a obstrução do rúmen e do piloro), com 40% de perfuração do esôfago. **NAKAMURA** observou infiltração de neutrófilos se estendendo para a camada muscular, além de erosão, úlcera e hemorragia, em alguns grupos de ratos. A perfuração da mucosa do esôfago ocorreu acima do diafragma. O tempo de 6h foi avaliado como o melhor para testar a eficácia de drogas. As alterações histopatológicas, encontradas no presente trabalho, como: infiltrado de neutrófilos, defeito epitelial(erosão) e inflamação crônica(fibrose), foram equivalentes aos achados inflamatórios agudos que são observados em humanos.

O presente experimento não mostrou a presença de úlceras hemorrágicas e nem a perfuração do esôfago, nos grupos estudados, ao contrário do modelo de **NAKAMURA**, em que a perfuração do esôfago ocorreu em 40% no grupo controle. A vantagem deste modelo sobre o desenvolvido por **NAKAMURA** é que proporcionou o estudo de RGE do tipo crônico, preservando a sobrevivência dos animais. Os resultados

histopatológicos de **NAKAMURA** e do presente trabalho confirmaram as dificuldades que ainda existem no estudo anátomo-patológico para o diagnóstico de esofagite em ratos.

No presente trabalho, os resultados das alterações histológicas relacionados aos três grupos foram semelhantes, no que se refere à presença de eosinófilos na JEG. Não houve explicação para justificar a presença de eosinófilos, na JEG dos ratos do grupo controle. Talvez este achado corresponda à normalidade para a espécie.

OMURA(1999), em trabalho publicado, observou a presença de : espessamento epitelial aumentado, aumento do alongamento da papila, linfócitos e eosinófilos na lâmina própria. Não foram observados, entretanto, linfócitos e eosinófilos no epitélio. Apesar do objetivo do trabalho ter provocado o refluxo ácido(gástrico) e crônico em ratos, não houve explicação para a ausência de linfócitos e eosinófilos no epitélio esofágico, como é comum em humanos, portadores de esofagite, sendo este achado, atualmente, muito valorizado. Os resultados foram semelhantes, mesmo no grupo controle.

No presente estudo, a atrofia da camada muscular da mucosa esofágica foi a alteração histológica que incidiu nos 3 grupos de forma heterogênea. Predominou no grupo A(55%) e teve incidência menor no grupo controle(25%) e no grupo B(25%).

Mesmo utilizando modelos que provocaram lesões agudas ou crônicas na mucosa esofágica, conforme trabalhos publicados, por meio de

técnicas que modificaram a anatomia do sistema digestório, o diagnóstico de esofagite, em ratos, ainda apresenta resultados não homogêneos.

O presente experimento comprovou que ocorreu refluxo de Bário para o esôfago sem esofagite, pois o objetivo foi desenvolver um modelo experimental de refluxo e não de esofagite.

No presente estudo, não ocorreu infecção operatória, sendo desnecessário o uso de antibiótico. Os animais não necessitaram de hidratação venosa. O número de pessoas que participaram da técnica operatória foi menor, quando comparado com modelos que utilizaram animais de grande e médio porte. Isto foi importante, pois diminuiu a dependência do pesquisador em relação a necessidade de auxílio durante os procedimentos, evitando atrasos na pesquisa.

O presente modelo experimental é inovador, pois desenvolveu RGE em animal de pequeno porte preservando a anatomia do sistema digestório. Reproduziu o RGE de maneira semelhante como ocorre em humanos. É um modelo que pode ter grande utilidade no desenvolvimento da pesquisa de meios diagnósticos e terapêuticos (novas drogas e técnicas operatórias) para o RGE.

6. CONCLUSÃO

A miectomia total, com ressecção de 1,5 cm da camada muscular do esôfago abdominal de ratos, provoca RGE na maioria dos animais, mostrando ser um bom modelo experimental.

A miectomia parcial não se mostrou um bom modelo de refluxo gastroesofágico, em ratos.

7.Referências.

Carveth SW, et al. Esophageal motility after vagotomy, phrenicotomy, myotomy, and myomectomy in dogs. Surg Gynec Obst 1962; 114: 31-42.

Crema, E. Análise comparativa entre três tipos de válvula anti-refluxo: Anterior, posterior e lateral após a cardiomiectomia ampla. Estudo experimental em cães [Tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 1998.

Cross FS, Wangenstein OH. Role of bile and pancreatic juice in production of esophageal erosions and anemia. Proc Soc Exper Biol Med. 1951; 77: 862-66.

Domene CE, et al. Cardiomiectomia com funduplicatura parcial videolaparoscópica no tratamento do megaesôfago não avançado. Rev Col Bras Cir 1998;25:229-234.

Evander A, et al. Composition of the refluxed material determines the degree of reflux esophagitis in the dog. Gastroenterology 1987; 93: 280 – 6.

Ferguson DJ, et al. Studies on experimental esophagitis. Surg 1950; 28(6):1022-39.

Funes HLX, et al. Vídeo-laparoscopia no tratamento da doença por refluxo gastroesofágico. Rev Col Bras Cir 2000;27:312-315.

Greenwood RK, et al. The effect of sympathectomy, vagotomy, and oesophageal interruption on the canine gastro-oesophageal sphincter. Thorax 1962; 17: 310-19.

Helsingen N. Oesophageal lesions following total gastrectomy in rats. I. Development and nature. Acta. Chir. Scand. 1959 / 1960; 118: 202-216.

Helsingen, N. Oesophagitis following total gastrectomy in rats. II. Development of oesophagitis in relation to type of reconstruction. Acta Chir. Scand . 1960; 119:230-45.

Hwang K, Essex HE, Mann FC. A study of certain problems resulting from vagotomy in dogs with special reference to emesis. Am J Physiol 1947; 149: 429-448.

Inatomi N, et al. Effects of a proton pump inhibitor, AG – 1749 (Lansoprazole), on reflux esophagitis and experimental ulcers in rats. Japan J Pharmacol. 1991;55:437-451.

Ishii Y, Fujii Y, Yasmashita T. Effect of sodium polyacrylate on chronic reflux esophagitis in rats. Arzneim-Forsch / Drug Res. 1981; 31: 2112-15.

Ito, F. Study on pathogenesis of esophagitis(part 2). Experimental esophagitis in pylorus-ligated rats(shay); morphological aspects and correlation with the volume and acidity of gastric juice. Japan J Gastroenterol.1968; 65 : 51-57.

Karas IM, et al. The gastroesophageal junction in the monkey and its relation to reflux. *Journal of Surgical Research*. 1966; 6: 469-77.

Lambert R. Relative importance of biliary and pancreatic secretions in the genesis of esophagitis in rats. *Am J Dig Dis*. 1962; 7: 1026-33.

Levrat M, Lambert R, Kirshbaum G. Esophagitis produced by reflux of duodenal contents in rats. *Am J Dig Dis*. 1962; 7: 564-573.

Melo LL, et al. Influence of surgically induced gastric and gastroduodenal content reflux on esophageal carcinogenesis – experimental model in Wistar female rats. *Diseases of the esophagus*. 1999; 12: 106-115.

Mud HJ, et al. Active trypsin and reflux oesophagitis: an experimental study in rats. *Br J Surg*. 1982; 69: 269 - 272.

Nakamura K, et al. Effects of Sodium Polyacrylate (PANa) on acute esophagitis by gastric juice in rats. *Japan J Pharmacol*. 1982; 32: 445 - 456.

Omura N, et al – Establishment of surgically induced chronic acid reflux esophagitis in rats. *Scand J Gastroenterol*. 1999; 34: 948 - 953.

Pera M, et al. Epithelial cell hyperproliferation after biliopancreatic reflux into the esophagus of rats. *Ann Thorac Surg*. 1998; 65: 779 - 786.

Radmark T, Pettersson GB. The contribution of the diaphragm and intrinsic sphincter to the gastroesophageal antireflux barrier. An experimental study in the dog. *Scand J Gastroenterol*. 1989; 24: 85 - 94.

Salmon R, Hem B. Bile reflux esophagitis. A critical study of two models in the rat. *Digestion*. 1981; 22: 73 - 79.

Selye, H. The experimental production of peptic haemorrhagic oesophagitis. The Canadian Medical Association Journal. 1938; 39: 447 - 448.

Kobori O, Seto Y. Role of reflux oesophagitis and acid in the development of columnar epithelium in the rat oesophagus. Br J Surg. 1993; 80: 467 - 470.

Smiddy FG, Atkinson M. Mechanisms preventing gastro-oesophageal reflux in the dog. Br J Surg. 1960; 47: 680 – 687.

Stein HJ, et al. 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.

WIXSON SK, et al. A comparison of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam anesthesia in adult male rats. Laboratory Animal Science. 1987; 37: 726 - 30.

Zilberstein B, et al - Esofagogastrofunduplicatura videolaparoscópica por técnica mista. Rev Col Bras Cir 1999; 26: 341 - 345.

NORMAS ADOTADAS

Centro Latino-americano e do Caribe de informações em Ciências da Saúde. DeCS: Descritores em Ciências da Saúde. 3ª ed. São Paulo: Bireme; 1996. Disponível em : URL: <http://decs.bvs.br>

C.O.B.E.A. (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). Princípios éticos na experimentação animal. São Paulo. 1991. Disponível em URL : www.meusite.com.br/cobea/index.htm

Goldenberg S. Orientação normativa para elaboração e difusão de trabalhos científicos. São Paulo: 2001. Disponível em : [URL:http://www.metodologia.org](http://www.metodologia.org)

Internacional Committee of Medical Journal Editors(ICMJE). Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. Ann Intern Med 1997; 126:36-47. Disponível em URL: <http://www.icmje.org>

Rother ET, Braga MER. Como elaborar sua tese: estrutura e referências. São Paulo: 2001.

RESUMO

A doença do refluxo gastroesofágico vem despertando o interesse de clínicos e cirurgiões durante a última década, na pesquisa de inovações no diagnóstico e tratamento. A junção esofagogástrica desempenha um papel fundamental na origem desta doença. É responsável por 75% das doenças do esôfago. Os modelos experimentais desenvolvidos utilizam animais de grande e médio porte e/ou não preservam a anatomia original dos órgãos envolvidos.

Com o objetivo de desenvolver um modelo experimental de refluxo gastroesofágico em animais de pequeno porte, foi realizada a miectomia no terço inferior do esôfago. Foram observados os seus efeitos em 60 ratos(n= 60), Wistar, distribuídos em 3 grupos, compostos por 20 animais. Os animais do grupo A foram submetidos à miectomia total e os animais do grupo B à miectomia parcial. O grupo C(Sham) foi o grupo controle. Após 30 dias os animais foram submetidos ao estudo radiológico do esôfago e à ressecção do esôfago inferior para estudo anátomo-patológico. Quatorze(14) animais do grupo A apresentaram refluxo de bário no esôfago.Em sete(7) ratos do grupo B e em dois(2) do grupo C, foram observados a presença de Bário no esôfago. As alterações microscópicas de esofagite estiveram presentes nos 3 grupos com intensidade variável. A Perda ponderal predominou nos animais do grupo A (16), porém não existiu diferença estatística.

Concluiu-se que a miectomia total provoca refluxo gastroesofágico na maioria dos animais, mostrando ser bom modelo experimental.

ABSTRACT

The past decade, has seen a huge rise in the number of surgeons and clinicians who show great interest in developing scientific researches that lead to innovations in the diagnosis and treatment of the gastroesophageal reflux disease. The lower esophageal sphincter plays an important role in the development of this illness. It's responsible for 75% of the esophagus diseases. The experimental models that have been developed so far make use of large and medium-sized animals. Besides, they do not preserve the original anatomy of the digestive tract.

The initiative of this work is aimed at the observation of the effects of the myectomy performed in the lower part of the esophagus. Sixty wistar rats were divided into 3 groups(A, B and C), composed of twenty animals each. The animals that belonged to group A underwent total myectomy, whereas the animals inserted into group B were subjected to partial myectomy. Group C(Sham) was the control group.

After thirty days, the animals were used for a radiologic study of the esophagus and for a resection of the lower part. The samples were submitted to a pathologic anatomy analysis. Fourteen animals from group A presented Barium reflux in the esophagus. Seven rats from group B and two animals from group C indicated the presence of contrast in the esophagus.

The microscopic changes caused by esophagitis were found in the three groups examined, with variable intensity. Some weight loss was

predominant among rats inserted in group A, but there was no statistical difference.

Based on this research, it's evident that the total myectomy produced a gastroesophageal reflux that was detectable in the majority of animals tested. This experimental model proved to be useful.

ANEXOS

Anexo 1

Ficha de protocolo

Animal:

Raça:

Sexo:

Idade:

N:

Cauda(marcação):

Peso(primeira cirurgia):

Peso(segunda cirurgia):

Datas das cirurgias

Primeira ___/___/___

Segunda ___/___/___

Duração da primeira anestesia:

Quantidade de anestésicos na primeira cirurgia:

Duração da primeira cirurgia:

Duração da segunda anestesia:

Quantidade de anestésicos na segunda cirurgia:

Duração da segunda cirurgia:

Presença de bário: 1 - Estômago; 2 – Junção esofagogástrica; 3 – Esôfago abdominal; 4 – esôfago torácico.

Quantidade de bário

- 1,5ml:

- 2ml:

- 3ml:

- 4ml:

Anexo 2
Exame histopatológico da Muscular do esôfago de rato.

Rato número : Data :

Peça : Muscular do Esôfago de rato.Terço inferior.

Objetivo do histopatológico: Confirmar se o tecido corresponde a camada muscular do esôfago

Anexo 3**Exame histopatológico do esôfago de rato.**

Rato número : Data :

Peça : Esôfago de rato.Terço inferior

Objetivo do histopatológico.

- **Avaliar presença de esofagite e o grau .**
- **Avaliar presença de displasia ,grau e local da displasia.**
- **Avaliar presença de esôfago de Barret.**
- **Avaliar presença de metaplasia intestinal e local.**
- **Avaliar presença de papilomatose.**

Anexo 4

Rato nº _____.Data:____/____/____.Anexo do histopatológico do esôfago de rato.Roteiro para classificar e assinalar os tipos de alterações na esofagite,baseado em trabalhos com histopatológico de ratos.

Esôfago normal do rato.

- A mucosa é composta de células da camada basal e células escamosas.
- O epitélio esofágico é composto de uma camada paraqueratótica.

Sinais de esofagite no rato.

Macroscopia.

- Existem mais de um sítio de esofagite? () sim () não.
- Locais : Na junção (). Acima da junção ().
- A lesão é uniforme? () sim () não.
- Apresenta ulcerações? () sim () não. Locais : Na junção (). Acima da junção ().
- Edema () sim () não. Locais: Na junção (). Acima da junção ().
- Estenose () sim () não. Locais: Na junção () Acima da junção ().
- Erosões na mucosa () sim () não. Locais: Na junção () Acima da junção ().
- Pontos hemorrágicos () sim () não. Locais: Na junção () Acima da junção ().
- Epitélio espessado.() sim () não. Locais : Na junção () Acima da junção ().

Microscopia.

- Alongamento da papila na lâmina própria dentro do epitélio () sim () não.
- Epitélio colunar no esôfago. () sim () não.
- Infiltração de células inflamatórias na lâmina própria: () sim () não. () linfócitos ; () eosinófilos ; () neutrófilos.
- Interrupção da lâmina muscular da mucosa. () sim () não.
- Ausência de células inflamatórias no epitélio esofágico. () sim () não.
- Aumento do número de fibras colágenas na lâmina própria () sim () não, e na submucosa () sim () não.

-Camada epitelial :

- Dissociação da camada cornificada . () sim () não.
- Perda de células epiteliais . () sim () não.
- Edema de células epiteliais. () sim () não.

-Lâmina própria:

- Líse . () sim () não.
- Edema . () sim () não.
- Congestão. () sim () não.
- Hemorragia. () sim () não.
- Hemólise. () sim () não.
- Formação de trombo . () sim () não.
- Infiltração de leucócitos. () sim () não.
- Depósito de pigmento amarelo. () sim () não.

Prof. Edmilson Gaia Filho. Fone : 9981-6390.

Anexo 5

Tabela VII. Ratos do grupo A segundo avaliação do peso(em gramas) e da presença de refluxo esofágico

RATO N°	Antes do 1º procedimento	Antes do 2º procedimento	Com Refluxo	Sem Refluxo
1	344	333	+	
2	222,5	196,5	+	
3	261,5	258,5		+
4	287	264	+	
5	296	287	+	
6	320	213	+	
7	362,5	358,6	+	
8	291	319	+	
9	268,5	204	+	
10	293,7	255,4		+
11	268,1	279,7		+
12	286,8	231,6	+	
13	340,5	313,3	+	
14	295,7	277,3	+	
15	294,8	245,4		+
16	295,5	225,9		+
17	278	219	+	
18	288	255,6	+	
19	270,4	284,5	+	
20	305,6	315		+

Tabela VIII. Ratos do grupo B segundo avaliação do peso(em gramas) e da presença de refluxo esofágico

RATO N°	Antes do 1º procedimento	Antes do 2º procedimento	Com Refluxo	Sem Refluxo
21	250,9	288,3	+	
22	271,2	281,2		+
23	274,9	292,9		+
24	311	298,7		+
25	308	305,5	+	
26	310,4	326,4	+	
27	249,5	273,2		+
28	292,7	339,9		+
29	284,9	302,4		+
30	290,5	317		+
31	271,7	308,7		+
32	229,5	249,8	+	
33	261,7	273		+
34	294,5	280		+
35	275,5	275,5	+	
36	249,1	270,2		+
37	302,4	332,5	+	
38	269,5	296,3		+
39	290,5	305,5	+	
40	277,2	314,9		+

Tabela IX. Ratos do grupo C segundo a avaliação do peso(em gramas) e da presença de refluxo esofágico

RATO N°	Antes do 1º procedimento	Antes do 2º procedimento	Com Refluxo	Sem Refluxo
41	397	412,5		+
42	235	252	+	
43	348	358		+
44	240	298		+
45	257	281		+
46	256	290		+
47	257	298	+	
48	287,5	300		+
49	293	316		+
50	258	288		+
51	245	270		+
52	244	275,5		+
53	249	271,4		+
54	249,8	257,4		+
55	342,8	358,8		+
56	339,5	329,7		+
57	295,7	294,5		+
58	314,4	376,8		+
59	273,2	280		+
60	295,5	297,1		+

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)