



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES

**DISTENSÃO RETAL AUMENTA A TAXA DE RELAXAMENTOS TRANSITÓRIOS
DO ESFÍNCTER ESOFÁGICO INFERIOR EM CÃES ANESTESIADOS**

FORTALEZA

2013

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES

**DISTENSÃO RETAL AUMENTA A TAXA DE RELAXAMENTOS TRANSITÓRIOS
DO ESFÍNCTER ESOFÁGICO INFERIOR EM CÃES ANESTESIADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Cirurgia.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza

Co-Orientador: Prof Dr. José Ronaldo Vasconcelos da Graça

Fortaleza-Ceará

2013

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES

**DISTENSÃO RETAL AUMENTA A TAXA DE RELAXAMENTOS TRANSITÓRIOS
DO ESFÍNCTER ESOFÁGICO INFERIOR EM CÃES ANESTESIADOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Cirurgia.

Tese Apresentada em: 31/01/ 2013

BANCA EXAMINADORA DA TESE

**Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza
UFC- Faculdade de Medicina- Orientador**

Prof. Dr. Rommel Prata Regadas (UECE)

Prof. Dr. Marcos Vinicius Alves de Lima (UECE)

Prof. Dr. Lusmar Veras Rodrigues (UFC)

**Prof. Dr. José Ronaldo Vasconcelos da Graça (UFC –Sobral)
Co-Orientador**

FICHA CATALOGRÁFICA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Universidade Federal do Ceará Biblioteca de Ciências da Saúde

Neves, José Ricardo Cunha

Distensão retal aumenta a taxa de relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior em cães anestesiados\ Jose Ricardo Cunha Neves -2013
63 f. : il., enc. ; 30 cm.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Departamento de Fisiologia Campus Sobral, Programa de Pós-Graduação em Cirurgia, Fortaleza, 2013.

Área de concentração: Cirurgia \Fisiologia de Órgãos e Sistemas.
Orientação: Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza.
Co-orientação: Prof. Dr. José Ronaldo Vasconcelos da Graça.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza as suas observações e ao conhecimento profundo sobre o tema abordado por esta tese de doutorado.

Agradeço ao Prof.Dr José Ronaldo Vasconcelos da Graça por sua inestimável e imprescindível ajuda nos experimentos e na confecção desta tese, sem este apoio na chegaria ate aqui.

Agradeço a meus alunos da graduação do curso de medicina da UFC em Sobral, Bruno Teixeira Mota e Luiziane Hermogenes na condução dos experimentos desta tese.

Agradeço ao técnico do laboratório Francisco José Gomes.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese de doutorado a minha querida, dedicada e inesquecível mãe que nos deixou há 4 anos , mas que não conteria as lagrimas de emoção com meu sucesso. De onde estiver a minha certeza de seu apoio incondicional.

RESUMO

DISTENSÃO RETAL AUMENTA A TAXA DE RELAXAMENTOS TRANSITÓRIOS DO ESFÍNCTER ESOFÁGICO INFERIOR EM CÃES ANESTESIADOS. JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES, Tese (Doutorado). Programa de pós-graduação *stricto sensu* em Cirurgia. Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará. 31/01/ 2013. Orientador: Prof. Dr. Miguel Ângelo Nobre e Souza

Relaxamentos transitórios (rTEEI) do esfíncter esofágico inferior (EEI), são caracterizados como quedas da pressão do EEI aos níveis da pressão intragástrica, não precedidos por deglutição. rTEEI são o principal mecanismo da doença do refluxo gastresofágico (DRGE). Objetivamos avaliar o efeito da distensão retal sobre a taxa de rTEEI, assim como os mecanismos neurohumorais relacionados a esse fenômeno em cães. Utilizamos (44) cães errantes, SRD(sem raça definida) machos (10-20Kg), obtidos do Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura Municipal de Sobral. Seguida anestesia (Ketamina 12,5mg/kg + Xilasina 20mg/Kg - IM), um cateter de manometria esofágica foi introduzido *per os* e posicionado no estomago e esôfago. Medimos as pressões intragástrica, do EEI e do corpo esofágico. O lúmen central foi usado para distender o estomago com ar (50ml/kg,). Já distensão retal deu-se por meio de balão de látex (5ml/kg,). Os animais foram submetidos a 3 protocolos experimentais sequenciais (n = 26): I) distensão gástrica (DG) isolada, II) distensão retal (DR) isolada e III) distensão gástrica + retal. Realizamos DR em outros três grupos de animais após pré-tratamentos farmacológicos i.v.: atropina (0,15 mg/kg/ n=4), hexametônio (10mg/kg/ n=4) ou baclofeno (7,0µg/Kg, n=3); ou cirúrgicos: secção bilateral dos nervos pudendos (SNP/ n=4) ou transecção medular (L3-L4) (TM, n=4). Avaliamos a taxa, a latencia e a duração dos rTEEI, bem como a pressão do EEI e gástrica. Em relação ao período basal (2,8±0,8 eventos/h) a DG, DR ou DG+DR aumentaram a taxa de rTEEI (6,0±1,0; 5,2±1,8 ou 9,5±2,5 eventos/h, respectivamente, p<0,05). Os pré-tratamentos com atropina ou baclofeno, a TM ou SNP preveniram o aumento da taxa de rTEEI secundário a DR. Já o pré-tratamento com hexametônio foi incapaz de prevenir o fenômeno . Os resultados indicam a presença de um novo reflexo gastrointestinal, ora descrito como reflexo reto-esofágico. Este seria mediado pelos nervos pudendos via medula espinhal, com integração no sistema nervoso central, dependente de transmissão GABAérgica e periféricamente dos receptores muscarínicos.

DESCRITORES: Motilidade esofágica, Relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior, Distensão retal, Distensão gástrica, Cães.

ABSTRACT

THE RECTAL DISTENSION INCREASES THE RATES OF THE TRANSIENT RELAXATIONS FROM THE SPHINCTER LOWER ESOPHAGEAL IN ANESTHESIA HOUNDS.

JOSÉ RICARDO CUNHA NEVES, Thesis(doctorate).Program of the pos graduation stricto sensu in surgery.medical university.Federal university from Ceará.Mastermind: Prof.Dr.Miguel Ângelo Nobre de Souza -2013.

Transient relaxations (rTEEI) of the lower esophageal sphincter,are characterized like the Pressure drop of the EEI of the levels of the intragastric pressure,not preceded for the swallow. rTEEI are the main mechanism of the Gastroesophageal reflux disease (DRGE). we aim to evaluate the effects of the rectal distention about the rates of the Rteei,like the neuro-hormonal mechanisms related to this phenomenon in hounds.

We used (44) wandering hounds, SRD(no distinct breed) males (10-20 kg),obtained from the control center of the zoonoses from the City Hall of Sobral. Followed by anesthesia (Ketamina 12,5mg/kg + xilasina 20mg/kg-IM).An catheter of esophageal manometry was introduced per os and positioned in the esophageal and in the stomach.

We measure the intragastric pressure,of the EEI and of the esophageal corps. The central lumen was used to distend the stomach with air (50ml/kg).The distention already occurred through the latex baloon (5ml/kg).

The animals were submitted a 3 experimental sequential protocols (n = 26). gastric distention (GD) isolated,2)rectal distention(RD) isolated and 3) gastric distention and rectal. we performed RD in three others groups of hounds after pre treatments.three others groups of hounds after the pre treatments pharmacological i.v.: atropine (0,15 mg/kg n=4). hexamethonium (10mg/kg n=4) ou baclofen(7,0 ug/kg, n=3) or cirurgic:bilateral section of the pudental nerves(SNP,n=4) or spinal cord transection(L3-L4) (TM,N=4).

We evaluate the rate ,the latency and duration of the rTEEI,as well as the pressure of the EEI and gastricin relation to the baseline period(2.8+or-0.8 events/h) a GD,RD or GD+RD increased the rate of the rTEEI(6.,0±1,0 or-;5,2±1,8 or 9,5±2,5 events/h),respectively,p<0.05). The pre treatments with atrpine and baclofen, the TIM or SNP prevent the increase of the rate of the secondary rTEEI a DR.

Already with the pre treatment with hexamethonium were capable of prevent the phenomenon. The results indicated the presence of one new gastrointestinal relfexs described as rectal esophageal reflex.

This would be mediated via spinal nerves pudental,with integration in the nervous central sistem,dependent of the transmission GABAégica and peripherally muscarinic receptor.

Key Words: esophageal motility, transient relaxations (rTEEI) of the lower esophageal sphincter,retal distencion, gastric distencion, hounds.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ach - Acetilcolina
BAR - Barreira anti refluxo
CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CE - Ceará
COBEA - Colégio brasileiro para uso de experimentação com animais
CCZ – PMS - Centro de controle de Zoonose da Secretaria da Saúde e Ação Social da Prefeitura Municipal de Sobral
CCK - Colecistocinina
DR - Distensão retal
DRGE - Doença do refluxo gastroesofágico
E EI - Esfíncter esofágico inferior
et al - e colaboradores
Fig. - Figura
GABA - Acido Gama amino butirico
i.v. - Intravenoso
JEG - Junção esôfago-gástrica
L NAME - Metil-éster de N-nitron-N-arginina
n - Número
NANC - Não adrenérgico não colinérgico
ON - Óxido nítrico
NOS - Enzima sintase de óxido nítrico
p - Intervalo de significância
RGE - Refluxo gastroesofágico
RTEEI/rTEEI - Relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior
SRD - Sem raça definida
SBCAL - Sociedade Brasileira de Ciência em animal de laboratório
TGI - Trato gastrointestinal
vs. - Versus
UFC - Universidade Federal do Ceará

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Posicionamento da sonda de manometria para os registros da taxa de RTEEI em cães.....	28
Figura 2 - Representação esquemática dos registros da taxa de RTEEI advindo da DR em cães anestesiados.	28
Figura 3 - Sonda retal posicionada a cerca de 6 cm da margem anal de acordos com Yong Lei <i>et al.</i>	29
Figura 4 - Representação esquemática dos grupos utilizados no estudo	34
Figura 5 - Efeitos da distensão gástrica sobre a motilidade esofágica e gástrica.....	37
Figura 6 - Efeitos da distensão retal sobre a motilidade esofágica e gástrica	38
Figura 7 - Efeitos da distensão gástrica + retal sobre a motilidade esofágica e gástrica	39
Figura 8 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados pré- tratados com atropina.....	41
Figura 9 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados pré- tratados com hexametônio.....	42
Figura 10 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados pré- tratados com baclofeno	43
Figura 11 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados sob secção bilateral dos nervos pudendos.....	45
Figura 12 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados sob transecção medular lombar.....	46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Efeitos da distensão gástrica (n=5) ou distensão retal (n=5) e distensão gástrica seguida da distensão retal (n=4) sobre a taxa(eventos/h), a latência para o primeiro (min) e a duração média (s) de relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior e sobre as pressões (mmHg) no EEI e gástrica em cães anestesiados.....40
- Tabela 2.** Efeitos dos pré-tratamentos farmacológicos (atropina - 0,15mg/Kg (n=4); hexametonio 10mg/Kg, n(n=4) ou baclofeno 7,0 µg/Kg, n=4) sobre taxa (eventos/h), a latência (min) e a duração média (s) dos relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) e sobre as pressões (mmHg) no EEI e gástrica adivindos da distensão retal com balão em cães anestesiados.....44
- Tabela 3.** Efeitos dos pré-tratamentos cirúrgicos (secção dos nervos pudendos ou transecção medular completa entre L3-L4) sobre a taxa (eventos/h), a latência (min) para o primeiro e a duração média (s) de relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) e sobre as pressões (mmHg) no EEI e gástrica adivindas da distensão retal com balão em cães anestesiados.....47

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
1.1 Conceituando a Doença do Refluxo gastresofágico.....	14
1.1.1 Epidemiologia.....	14
1.1.2 Fisiopatologia.....	15
1.1.2.1 Refluxo fisiológico e patológico.....	15
1.1.2.2 Relaxamento Transitório do EEI (RTEEI).....	17
1.1.3 Relaxamento Transitório EEI.....	18
1.1.3.1 Relaxamento Transitório do Esfíncter Inferior do Esôfago. O principal fenômeno Motor Associado ao RGE	20
1.1.3.2 Características do rTEIE	21
1.1.3.3 Mecanismo do RTEIE	22
2. OBJETIVOS	25
2.1 Geral	25
2.2 Especifico	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1 Animais e aspectos éticos	26
3.2 Manometria esofágica e avaliação transitória do esfíncter esofágico inferior	26
3.2.1 Registros de manometria esofágica.....	27
3.3 Posicionamento da sonda retal	29
3.4 Protocolo Experimentais	30
3.4.1 Período basal	30
3.4.2 Estudos experimentais	30
3.4.2.1 Protocolo I – Distensão gástrica	30
3.4.2.2 Protocolo II – Distensão Retal.....	31
3.4.2.3 Protocolo III – Distensão Gástrica + Retal	31
3.4.3 Estudos dos mecanismos Neurohumorais.....	32
3.4.3.1 Pré tratamento Farmacológico.....	32
3.4.3.2 Pré tratamento Cirúrgico.....	32
3.5 Parâmetros estudados e análises estatísticas	35

4. RESULTADOS	37
4.1 Efeitos da distensão retal sobre a taxa de RTEEI decorrente da distensão retal em cães.....	37
4.2 Efeitos da Distensão retal sobre a motilidade esofágica e gástrica.....	38
4.3 Efeitos da Distensão gástrica + retal sobre a motilidade esofágica e gástrica.....	39
4.4 Mecanismo neurohumorais relacionados aos efeitos da distensão retal sobre a motilidade esofágica e gástrica	41
4.4.1 Pré tratamento farmacológico	41
4.4.2 Pré tratamento Cirúrgico	45
5. DISCUSSÃO	48
6. CONCLUSÃO	55
7. REFERÊNCIAS	56
8. ANEXOS	63

1- INTRODUÇÃO

1.1 - CONCEITUANDO A DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFAGICO

Em razão da alta prevalência da doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) as consultas na prática clínica são muito frequentes. O primeiro consenso Brasileiro da DRGE, realizado no ano 2000 em São Paulo (Moraes Filho JPP et al), conceitua DRGE como afecção crônica decorrente do fluxo retrógrado de parte do conteúdo gastroduodenal para o esôfago e /ou órgãos adjacentes a ele, acarretando um espectro variável de sintomas e / ou sinais esofágicos e/ ou extra esofágicos, associados ou não a lesões teciduais.

Segundo o consenso Internacional de Genval (Dent. J et al,1999), DRGE inclui também todos os indivíduos expostos ao risco de complicações por refluxo gastroesofágico ou que apresentam redução significativa na sua qualidade de vida devido aos sintomas de refluxo, mesmo após adequada informação a respeito da natureza benigna dos seus sintomas.

1.1.1 - Epidemiologia

Uma metanálise de estudos internacionais utilizando-se do critério “pirose pelo menos uma vez por semana, nos últimos doze meses” para o diagnóstico de DRGE encontrou uma prevalência variando entre 10 e 20% no mundo ocidental e até 5% no mundo oriental.(Dent.J et al 2005) Estatísticas brasileiras também apresentam grande variabilidade sendo observadas prevalências de 11,9% em inquérito realizado em 22 áreas metropolitanas e entre 18,2 e 31,3% em Pelotas, Rio Grande do Sul (Oliveira SS et al 2005).

Tais diferenças de prevalência podem ser reais ou atribuídas a variações nos delineamentos e definições utilizadas para o diagnóstico de DRGE nos estudos citados. Entretanto, a real prevalência é provavelmente mais elevada do que as acima descritas, considerando-se que sintomas atípicos como tosse crônica, rouquidão, dor retroesternal, etc. associados com DRGE, não foram incluídos nesses trabalhos populacionais.(Barros SGS et al 2005).

1.1.2 - Fisiopatologia

1.1.2.1 - Refluxo fisiológico e patológico

O refluxo de conteúdo gástrico para o esôfago é um evento fisiológico que ocorre, normalmente, em indivíduos saudáveis, principalmente, no período pós-prandial. Quando o refluxo ultrapassa uma determinada percentagem (4,2% em 24 horas), medida através de pH metria de 24 horas (DeMeester et al) há uma nítida associação com sintomas e/ou lesões esofágicas. Nesta situação, o refluxo passa a ser considerado (patológico). A presença de sintomas, com ou sem lesão tecidual, passa a ser denominado *Doença do Refluxo Gastroesofágico, DRGE*, (Dent J et al 1999).

A patogênese da DRGE é associada a múltiplos fatores, frequentemente coexistentes, de alterações anatômicas e funcionais na junção esofagogástrica (barreira anti-refluxo), na depuração (*clearance*) esofágica, na resistência epitelial da mucosa, na acomodação e motilidade gástricas e também na percepção ou na sensibilidade aos sintomas. (Castell DO et al 2004).

A Junção esofagogástrica ou barreira anti-refluxo (JEG) é uma região especializada, composta pelo esfíncter esofágico inferior (EEI) e pelo diafragma crural. A associação dessas duas estruturas anatômicas funciona como uma *barreira anti-refluxo* (BAR), ocluída em condições basais, evitando refluxo gastroesofágico. (Diamant NE et al 2006).

O EEI e o diafragma crural são considerados, funcionalmente como componentes “intrínseco” e “extrínseco” da Barreira Antirrefluxo e, anatomicamente, superpostos e “ancorados” entre si pelo ligamento frenoesofágico. O EEI é caracterizado por um espessamento da musculatura circular com 3 a 6 cm de extensão crânio-caudal, apresentando disposição circunferencial assimétrica, com seu nível pressórico mais elevado na parede lateral esquerda. (Stein HJ et al 1995).

O EEI, considerado o *componente intrínseco* da BAR, é composto por dois músculos. O primeiro é um músculo “semicircular” cujas fibras concentram-se na parede lateral direita do EEI, projetando-se para a parede anterior e posterior e com a sua abertura direcionada para a esquerda sendo chamado *clasp fibers* (fibras prensoras) e o segundo, um músculo cujas *sling fibers* (fibras pendentes) se estendem da parede anterior do antro, corpo e fundo gástrico, envolvendo a porção lateral esquerda do esfíncter, junto ao ângulo de His, e projetando-se até a parede anterior e posterior do estômago. Esses dois componentes são, funcionalmente, diferentes em muitos aspectos, cada um com suas propriedades contráteis. O músculo de fibras semicirculares (*clasp*) apresenta significativo tônus basal, ao passo que o tônus do

músculo de fibras oblíquas (*sling*) é menor, porém responde melhor aos estímulos colinérgicos.(Preiksaitis HG et al 1997).

Em condições normais, o EEI parece ser responsável por 90% da pressão basal na BAR, enquanto que o diafragma crural, principalmente no seu componente direito, enlaçando a circunferência externa do EEI, contribui com o restante da pressão. (Boeckxstaens GE et al 2005).

Fisiologicamente, durante a deglutição de alimentos há estimulação na faringe transmitida por fibras aferentes ao tronco encefálico, aonde os núcleos do trato solitário, ambíguo e dorsal do vago, processam o sinal e por sua vez enviam sinalização para o relaxamento do EEI e do diafragma crural, através das vias eferentes vagais e frênicas, respectivamente. (Diamant NE et al 2006).

A pressão do EEI reduz-se 1,5 a 2,5 segundos após a deglutição e permanece próxima a zero (intragástrica), durante 6 a 8 segundos, enquanto a onda peristáltica propaga-se ao longo do corpo esofágico, conduzindo o bolo alimentar ao estômago. Dois tipos principais de neurônios periféricos, pós-ganglionares, na parede do esôfago comandam a contração e o relaxamento do EEI sendo a acetilcolina o neurotransmissor excitatório que promove a contração muscular e o óxido nítrico e o peptídeo intestinal vasoativo (VIP), os inibitórios, desencadeando o relaxamento esfinteriano.

Em situações de aumento da pressão intra-abdominal (inspiração, defecação, micção, tosse), o diafragma crural exerce importante papel no reforço ao EEI sendo responsável pelo rápido aumento da pressão da BAR em 30 a 90 mm Hg acima da pressão de repouso. Essa área de alta pressão tem seu tônus influenciado por uma série de eventos fisiológicos, hormonais e medicamentosos.

1.1.2.2 - Relaxamento transitório do EEI (RTEEI)

O RTEEI é um fenômeno que ocorre, fisiologicamente, na eructação e corresponde a um relaxamento do EEI, causado por reflexo visceral vago-vagal. Tal relaxamento tem como principal indutor a distensão do estômago proximal, especialmente, durante o período pós-prandial, resultando em estímulo aos mecanorreceptores gástricos. Esse relaxamento é semelhante ao iniciado durante a deglutição, entretanto, sua duração é mais prolongada e seu mecanismo envolve um arco reflexo originado também no estômago (e não apenas na faringe) através de vias aferentes ao tronco encefálico que por sua vez sinalizam, através das fibras eferentes do vago e do nervo frênico, o relaxamento do EEI e do diafragma crural, respectivamente. (Panagini R et al 2004).

Pacientes com DRGE, usualmente, apresentam-se com pressão basal do EEI dentro da normalidade. Entretanto, episódios de relaxamentos transitórios, não relacionados à deglutição, são os principais responsáveis pelo refluxo gastroesofágico patológico. Portanto, o relaxamento transitório do EEI é o principal mecanismo responsável pelo refluxo gastroesofágico, tanto em indivíduos normais (refluxo fisiológico) quanto em indivíduos com DRGE (refluxo patológico). Estudos de (Iwakiri K et al 2005) sugerem que pacientes com refluxo patológico têm uma maior proporção de episódios de refluxo ácido associado a esses relaxamentos.

Entretanto, ainda é incerto se sua frequência é maior em portadores da doença do refluxo. Tal fenômeno ainda não é completamente compreendido, porém estudo recente (Scheffer RCH et al 2005) sugere que a maior frequência de episódios de refluxo ácido decorre da maior retenção do conteúdo alimentar no fundo gástrico em pacientes com refluxo patológico, resultando em maior gradiente de pressão entre o estômago e o esôfago nesses pacientes.

1.1.3 - Relaxamento transitório EEI

Em estudos de manometria esofágica, após a deglutição, é registrado o surgimento de uma onda peristáltica em direção ao estômago e, posteriormente, ocorre o relaxamento do esfíncter esofágico inferior (Jones et al., 2002).

Sem que haja nenhuma deglutição, o esfíncter esofágico inferior pode se relaxar espontaneamente por um período prolongado e, neste momento, há uma queda no pH esofágico, caracterizando um episódio de refluxo ao que se chama “relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior”.

Este é um mecanismo absolutamente normal, fisiológico, que todos nós temos. Todos têm relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior. Este mecanismo existe na natureza para permitir que se evacue o ar que se ingere quando comemos. É um mecanismo para ventilar o estômago. É normal. Mas em alguns indivíduos, durante esse mecanismo, não só sobe ar mas também sobe líquido e este líquido pode ser ácido ou não-ácido. Naqueles indivíduos em que sobe muito líquido ocorre uma enfermidade por refluxo gastro-esofágico.

Como foi dito, esse relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior pode associar-se a uma diminuição do pH dentro do esôfago, ou seja, ao refluxo ácido, mas também pode associar-se a um líquido que sobe, mas que não é ácido, não alterando o pH dentro do esôfago. Todos nós, depois de comer, temos relaxamentos transitórios. Sobe um pouco de gás, sobe um pouco de líquido e esse líquido não é ácido nem produz dano. É um fenômeno absolutamente normal que ocorre entre 30, 50 ou até 60 vezes por dia. (Poelmans J et al 2005).

O relaxamento transitório é um reflexo que nasce no estômago, quando ele se distende, por meio da ativação de mecanorreceptores no estômago que enviam um sinal por via aferente ao centro da deglutição no bulbo. Este centro manda um sinal por via eferente vagal que se conecta com neurônios do plexo mientérico do esfíncter esofágico inferior, promovendo a liberação de óxido nítrico (NO), substância que produz relaxamento do esfíncter. Este reflexo foi descrito há vários anos e hoje em dia é considerado um modelo.

Farmacologicamente, é possível interferir nesse sistema, através da redução do número de relaxamentos transitórios e, por consequência, reduzir o número de pessoas com refluxo. Esse é um alvo farmacológico para o tratamento da doença do refluxo que, neste momento, é muito importante. Recentemente, foi descrito que há outro elemento dentro do relaxamento transitório. O esfíncter não só se abre como também se eleva. Durante o relaxamento transitório há um encurtamento do esôfago produzido por uma contração do músculo

longitudinal (o esôfago como qualquer outro órgão gastrointestinal é revestido por uma camada muscular circular responsável pela contração peristáltica e uma camada longitudinal que quando se contrai faz com que o tubo se encurte).

Se o esôfago se encurta, o esfíncter atravessa o hiato diafragmático e se põe em uma posição intratorácica na qual fica mais fácil de abrir-se, o que facilita o relaxamento. Com a técnica de manometria de alta resolução foi demonstrado que um clipe posto no esôfago como marcador pode subir e depois voltar à sua posição após o relaxamento transitório (Pandolfino et al., 2006). O clipe se move no momento em que ocorre o relaxamento. É um movimento de 3 ou 4 cm de todo o esfíncter que sobe. Este mesmo fenômeno foi apresentado por um grupo de San Diego (EUA), através da medida da espessura da parede do esôfago por meio de ultrassonografia. (Mittal et al 2005).

O espessamento da parede do esôfago está intimamente ligado com a contração do músculo longitudinal. Se temos um tubo cilíndrico que se encurta, pela lei de conservação das massas, o encurtamento produz um aumento da espessura da sua parede. Então, pensando inversamente, se há um aumento da espessura podemos considerar que está havendo um encurtamento do tubo. Assim, pode-se observar que a parede aumenta de espessura e depois volta ao normal (Korsapati et al., 2008).

Este fenômeno ocorre durante o relaxamento transitório, o que confirma o que foi dito anteriormente, que o esfíncter sobe. Mas, o que acontece primeiro, o relaxamento ou o encurtamento? O que a maioria dos autores sugerem é que primeiro ocorre o encurtamento, que o reflexo que nasce no estômago, passa pelo bulbo e volta, ativando, primeiramente, a contração do músculo longitudinal, produzindo o encurtamento. O encurtamento produziria, então, o estiramento das fibras musculares do esfíncter, produzindo um efeito no plexo gástrico que liberaria NO e a conseqüente dilatação do esfíncter. Isto é muito importante do ponto de vista farmacológico, porque se pudermos acionar a contração do músculo longitudinal periféricamente, poderemos interferir no reflexo e reduzir o número de relaxamentos transitórios.

1.1.3.1- Relaxamento Transitório do Esfíncter Inferior do Esôfago: O Principal Fenômeno Motor Associado ao RGE

O RTEIE associado ao RGE foi inicialmente denominado *inapropriado*, porque não estava associado nem ao peristaltismo primário, induzido pela deglutição, nem ao peristaltismo secundário. Hoje, entretanto, o RTEIE não é mais considerado *inapropriado*, uma vez que representa o mecanismo quase único do RGE fisiológico que ocorre em indivíduos normais e é o mecanismo subjacente a um outro evento fisiológico, a eructação. As descrições originais dos RTEIE incluía relaxamentos associados com peristaltismo primário incompleto ou interrompido, isto é, por complexos peristálticos que eram abortados logo no esôfago superior ou médio, e não alcançavam o esôfago inferior, e os decorrentes de múltiplas e sucessivas deglutições.

Embora tais relaxamentos do EEI possam estar associados ao RGE, eles não são mais considerados com RTEIE, que é hoje considerado restrito aos relaxamentos não-associados aos complexos peristálticos primários, induzidos pela deglutição. Na verdade, como o RTEIE está sempre acompanhado de inibição da crura diafragmática, o termo mais correto para definir o que realmente ocorre deveria ser relaxamento transitório da junção esofagogástrica, mas a expressão RTEIE já está consagrada pelo uso. (Mittal et al 1995).

1.1.3.2 - Características dos RTEIE

Algumas características especiais distinguem o RTEIE dos relaxamentos induzidos pela deglutição. Os RTEIE são tipicamente mais prolongados do que aqueles induzidos pela deglutição. Duram de 5 a 30 segundos, usualmente mais de 10 segundos, enquanto a duração do relaxamento induzido pela deglutição quase nunca é superior a 6-8 segundos.

A redução da pressão do EEI que não alcança a pressão intragástrica e, portanto, não se associa a RGE é fenômeno referido como RTEIE incompleto. A duração do relaxamento do EEI se faz em uma velocidade média de 1 mmHg/s até alcançar a pressão intragástrica. Outra característica comum no RTEIE é a elevada amplitude da contração do EEI que ocorre após o término do relaxamento transitório. (Nilsson M et al 2004).

Além dos eventos motores da musculatura lisa do EEI durante os RTEIE, existe uma seletiva e completa inibição da musculatura estriada da crura diafragmática, a despeito da manutenção contínua da atividade do diafragma crural durante os RTEIE. O RTEIE parece, assim, constituir parte de um fenômeno inibitório mais geral que compromete uma série de estruturas situadas no tubo digestivo superior e fora dele, que influenciam o fluxo através da JEG, pois, além da referida inibição da CD, ocorrem, com frequência, eventos simultâneos na faringe, no corpo do esôfago e no estômago.

Estudos recentes têm revelado, também, a ocorrência de contrações da faringe e do músculo miloióide em 20 a 45% dos RTEIE, respectivamente, mas este é um assunto controverso, uma vez que outros estudos não conseguiram evidenciar esta mesma correlação. Essas contrações da faringe e do músculo miloióide, observadas por Mittal *et al* 2005., não são seguidas pelos complexos peristálticos primários e são usualmente 50% menores. No esôfago, os RTEIE têm sido descritos em associação com inibição do tônus do corpo do esôfago, quando associados a episódios de RGE, caracterizando uma cavidade pressórica comum. No estômago, tem sido descrita uma redução de 2 a 4 mmHg na pressão do fundo gástrico durante RTEIE, consistente com inibição ativa.

Entre os fatores que modulam a frequência dos RTEIE, merecem destaque a postura, o sono, a anestesia e o estresse. A posição de decúbito suprime quase totalmente os RTEIE, que só ocorrem com o indivíduo em posição ortostática, tanto em normais como em pacientes com DRGE. Estes, quando refluem durante a noite, o fazem geralmente durante curtos períodos em que os indivíduos despertam do sono, mesmo que não percebam. O estresse causado, por exemplo, pelo frio é também capaz de reduzir sensivelmente a frequência dos RTEIE em indivíduos saudáveis.

1.1.3.3 -Mecanismos do RTEIE

As causas do RTEIE, isto é, os indutores do relaxamento transitório, ainda não estão completamente desvendadas, mas existem estudos demonstrando que, pelo menos, duas áreas, localizadas uma no estômago e outra na faringe, são capazes, quando devidamente estimuladas, de deflagrar o reflexo que irá detonar o RTEIE.

A *distensão do estômago*, através de balão intragástrico ou mesmo de alimento, aumenta a frequência dos RTEIE e do RGE. Estudos bem-conduzidos, realizados já há alguns anos, identificaram a região proximal do estômago e a cárdia inclusive como as áreas mais sensíveis do estômago, onde estariam situados os mecanorreceptores que, estimulados, iriam deflagrar o RTEIE. Várias evidências indicam que a distensão dos mecanorreceptores inicia um arco reflexo, cujas fibras aferente transitam pelo nervo vago até os núcleos vagais superiores (solitário e dorsal), seja diretamente, seja por conexões entre neurônios. Daí, o arco reflexo, através de neurônios vagais eferentes, e mediado por mensageiros químicos do tipo não-adrenérgicos, não-colinérgicos (NANC), deflagra o RTEIE.

As evidências em favor do controle neurogênico do relaxamento do EEI e de sua natureza não-acrenérgica, não-colinérgica (NANC) induzidas ou não pela deglutição são as seguintes: (a) a estimulação vagal causa relaxamento do EEI, (b) o relaxamento do EEI é bloqueado pela tetrodotoxina e (c) o bloqueio colinérgico e adrenérgico não altera a função do EEI.(Ergun, Y et al 2001).

O mediador final que, em última análise, relaxa o EEI ainda não é conhecido, mas estudos recentes indicam que a deflagração do reflexo para o RTEIE, através da distensão gástrica, é inibida pelos antagonistas dos receptores da *co/ecistocinina* (CCKI e do *óxido nítrico* (ON.) Estudos em cães revelaram que a infusão endovenosa de CCK-8 aumenta a frequência dos RTEIE, qual é reduzida pelo antagonista do receptor da CCK-A, mas não pelo antagonista da CCK-B.

O envolvimento dos receptores da CCK na ocorrência de RTEIE induzidos pela distensão gástrica está em concordância com a liberação pós-prandial de CCK e a ocorrência pós-prandial de RTEIE, no homem e no cão. Esses achados têm alguma importância do ponto de vista terapêutico, uma vez que, no futuro, o desenvolvimento e a utilização dos antagonistas da CCK poderão vir a ter aplicação clínica no tratamento da DRGE, se estudos no homem forem semelhantes aos observados no cão.(Boulant, J et al 1994).

Esses mesmos autores demonstraram que a administração endovenosa de um inibidor do óxido nítrico - o L-NAME (metil-éster de N-nitro-N-arginina) - aumenta a pressão basal do EIE durante distensão gástrica, no cão, e diminui a frequência dos RTEIE, tais efeitos revertidos pela administração da L-arginina, substância que inativa o L-NAME, mas não pelo controle inativo, o D-NAME. Estes resultados confirmam estudos anteriores que demonstraram o papel do ON sobre o tônus basal do EIE, utilizando inibidores da sintase do ON ou doadores de ON. Analisando esses estudos detidamente, Boulant et al 1994 argumentam que, pelo fato de o antagonista da CCK-A reduzir a frequência e a duração dos RTEIE e o inibidor da sintase do ON reduzir apenas a frequência dos RTEIE, não se pode concluir que o ON seja o mediador final dos RTEIE induzidos pela CCK, sendo mais provável que ambos, CCK e ON, atuem por diferentes mecanismos. Já está estabelecido que, pelo menos em animais, (cães) a CCK induz relaxamento do EIE através da estimulação de neurônios inibitórios NANC e, pelo menos em aves, a infusão de CCK induz, também, uma resposta motora gástrica mediada pelo vago e que envolve a liberação de ON.

Outra área, além do estômago, que pode certamente iniciar o arco reflexo que deflagrará a RTEIE, é a *faringe*. O relaxamento do EEI sem deglutição pode ser induzido pela instilação de diminutas quantidades de líquido na hipofaringe". Recentemente, Mittal et al 2005 procuraram avaliar, em sete voluntários sadios, se a presença de um cateter na faringe poderia induzir relaxamento do EEI, sem induzir a deglutição. A manometria do EEI e do corpo do esôfago foi realizada através de um cateter colocado via gastrostomia, e os RTEIE foram registrados com e sem cateter na faringe. A frequência dos RTEIE foi significativamente maior durante a presença do cateter na faringéa.

Outro aspecto, também relacionado com o RTEIE e de presumível importância prática, é o recente e inesperado relato de que a atropina, embora reduza o tônus do EEI, fato este conhecido desde 1960, reduz significativamente a frequência dos RTEIE e, conseqüentemente, dos episódios de RGE, em voluntários sadios. A atropina reduziu a pressão basal do EEI de $16,4 \pm 3$ para $8,7 \pm 2$ mmHg e a frequência do RGE de $3,5 \pm 0,5$ no período controle para $0,4 \pm 0,2$ e $0,8 \pm 0,3$ nos dois períodos pós-atropina de 30 minutos cada. A frequência dos RTEIE também reduziu-se de $3,5 \pm 0,5$, no período controle para $0,4 \pm 0,2$ e $1,5 \pm 0,4$ nos dois períodos pós-atropina^{S4}. Esta é a primeira vez que se demonstra que a terapêutica medicamentosa pode diminuir a frequência dos RTEIE.

O mecanismo dessa redução da frequência dos RTEIE pela atropina ainda não é conhecido, mas poderia muito bem ser decorrente da diminuição do fluxo salivar, induzida pelo efeito anticolinérgico da atropina, com redução do estímulo subliminar à faringe e,

conseqüentemente, dos RTEIE. Este achado nos conduz à especulação de que, em futuro próximo, a atenção dos estudiosos venha fixar-se na tentativa de desenvolver novos fármacos que reduzam a frequência dos RTEIE, sem afetar o relaxamento induzido pela deglutição. Outra tentativa terapêutica seria a abordagem seletiva das áreas sensíveis do estômago, através da desnervação cirúrgica dos nervos envolvidos na deflagação do RTEIE, uma estratégia alternativa às atuais técnicas cirúrgicas utilizadas no tratamento da DRGE.

Diante deste fato resolvemos estudar o efeito da distensão retal sobre a taxa de relaxamentos transitórios do esfíncter inferior de cães anestesiados.

2 – OBJETIVO

2.1- OBJETIVO GERAL

2.1.1- Avaliar o efeito da distensão retal isolada ou associada a distensão gástrica sobre a taxa de rTEEI em cães anestesiados.

2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1- Investigar a via neurohumoral relacionada ao aumento da taxa de rTEEI advindo da distensão retal em cães anestesiados

2.2.1.1- Estudar a participação da transmissão colinérgica muscarínica no aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados mediante o pré-tratamento com Atropina (Bloqueador Muscarínico);

2.2.1.2- Estudar a participação da via colinérgica nicotínica ganglionar no aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados mediante o pré-tratamento com Hexametônio (Bloqueador ganglionar);

2.2.1.3- Estudar a participação via GABAérgica no aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados mediante o pré-tratamento com baclofeno (Agonista GABA_B central);

2.2.2- Investigar a via neural relacionada ao aumento da taxa de rTEEI advindo da distensão retal em cães anestesiados;

2.2.2.1- Estudar a participação da transmissão nervosa aferente/eferente via nervos pudendos no aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados mediante o secção cirúrgica bilateral dos nervos pudendos;

2.2.2.1- Estudar a participação da transmissão nervosa aferente/eferente via medula espinhal no aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados mediante a transecção medular completa lombar entre L3-L4;

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 – ANIMAIS E ASPECTOS ETICOS

Foram utilizados 44 cães errantes, sem raça definida (SRD), machos, pesando entre 10 a 20 Kg, provenientes do Centro de Controle de Zoonoses da Secretaria da Saúde e Ação Social da Prefeitura Municipal de Sobral-CE (CCZ-PMS). Os animais foram mantidos sob quarentena, em canis individuais, sob dieta para cães (Pedigree Champ[®]) e água *ad libitum* até 12h antes dos experimentos.

No dia anterior aos experimentos, com os animais sob jejum e livre acesso à água procedemos esvaziamento da ampola retal, por meio da administração retal de enema a base de sorbitol e lauril sulfato de sódio (Minilax[®] Eurofarma, São Paulo, Brasil).

Após os experimentos, os animais foram sacrificados sob aprofundamento do plano anestésico. Os animais sacrificados foram descartados pelo CCZ-PMS.

Todos os procedimentos anestésicos e terapêuticos foram conduzidos de acordo com o guia da Sociedade Brasileira de Ciência em Animal de Laboratório (SBCAL) sob supervisão e orientação de um médico veterinário. O protocolo seguiu aprovação do Comitê de Ética em pesquisa com animais da Faculdade de Medicina da UFC (protocolo n^o: 009.05.10, em 11 de agosto de 2010).

3.2- Manometria esofágica e avaliação do relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior

Para a experimentação todos os animais foram anestesiados com cetamina (10 mg.Kg⁻¹, UNIVET[®] São Paulo, Brasil) e xilazina (20 mg.Kg⁻¹ BAYER[®], São Paulo, Brasil) I.M. Uma dose de reforço, na mesma concentração, foi re-administrada i.v. quando necessário (quando da presença do reflexo palpebral).

Garantimos acesso venoso por meio de punção venosa periférica para injeção de salina, dose complementar de anestésicos e/ou drogas.

3.2.1 – Registros de Manometria Esofágica

Após os animais atingirem o plano anestésico, uma sonda de manometria esofágica com 08 canais e 01 orifício central especialmente confeccionada para este fim, foi introduzida, por via oral. Quatro canais em espiral dispostos a 0,5 cm entre si se prestaram ao monitoramento das pressões do EEI. Três canais situados a 3, 8 e 13 cm proximais ao EEI serviriam para monitorar as pressões e a peristalse do corpo esofágico. Já o canal situado a 5 cm distais ao EEI serviu para monitorar a pressão intragástrica. (Figura 4).

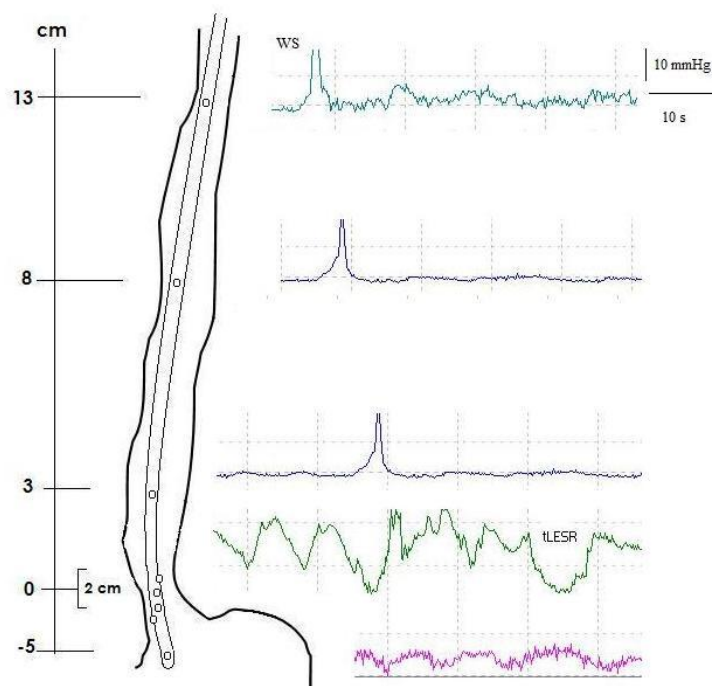


Figura 1 – Posicionamento da sonda de manometria esofágica e traçado de manometria ilustrativo de um experimento.

Para os registros manométricos, os animais foram colocados em posição de decúbito lateral direito. A sonda de manometria foi completamente introduzida até o estomago dos animais. A sonda então foi tracionada de forma gradual até que os 4 canais espirais registrassem a pressão mais alta, que corresponderia anatomicamente ao EEI. O canal mais distal da sonda permaneceu no interior da câmara gástrica, registrando a pressão gástrica durante todo o exame. O exame teve duração total de 90 a 120 min a depender do protocolo adotado.

A sonda foi acoplada ao sistema de manometria esofágica de perfusão líquida ($0,5 \text{ MI}/\text{min}^{-1}$) com alta pressão e baixa complacência (Viote System® - Brasil), para o correto posicionamento da sonda de acordo com os registros das pressões gerados pelo corpo do esôfago, EEI e estômago proximal, visualizados em microcomputador através do sistema de captura e armazenamento digital (PowerLab System - ADInstruments™) de acordo com Graça *et al* (2010).

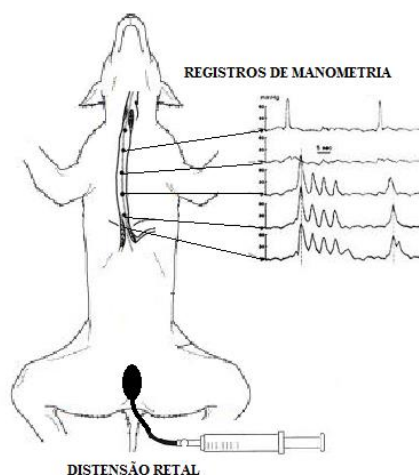


Figura. 2 – Representação esquemática dos registros da taxa de RTEEI advindo da DR em cães anestesiados.

3.3 – Posicionamento da sonda retal

A sonda retal foi confeccionada a partir de um dedo de luva de látex de 8 cm de comprimento e 5 cm de diâmetro quando insuflado. A sonda retal foi posicionada entre 5 a 6 cm da rima anal (figura 3, de acordo com Yong Lei *et al* ,2005))

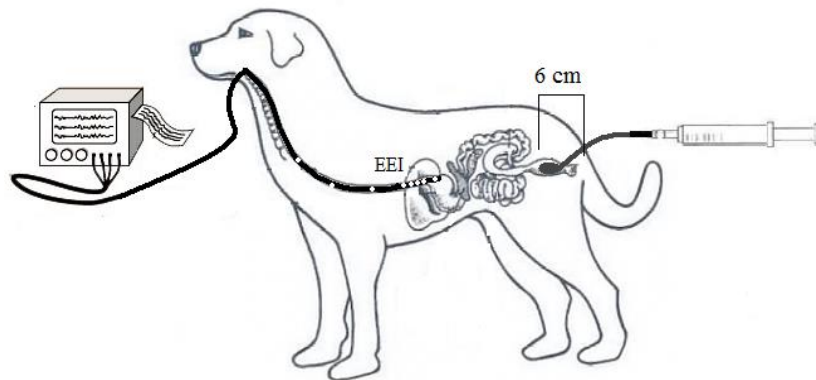


Figura. 3- Sonda retal posicionada a cerca de 6 cm da margem anal de acordos com Yong Lei *et al*.

3.4- Protocolos Experimentais

3.4.1. – Período Basal

Após o procedimento anestésico e o correto posicionamento das sondas gástrica e retal, procedeu-se o registro manométrico dos primeiros 45 minutos considerados o período basal com vista à avaliação da motilidade esofágica induzida e espontânea. Medimos e registramos as pressões espontâneas do corpo esofágico, do EEI e do estômago e durante 5 deglutições induzidas por 3ml de água destilada por meio de uma sonda de polietileno posicionada na orofaringe. Este procedimento visou determinar os níveis máximos de relaxamento do esfíncter esofágico inferior e as pressões do corpo esofágico. Note-se que os animais não deglutiam de forma espontânea, tendo em vista o aprofundamento do plano anestésico, somente após indução por meio deste procedimento.

Todos os animais foram submetidos ao período basal, e somente após este período, os animais foram distribuídos aleatoriamente em um dos protocolos experimentais descrito a seguir.

3.4.2- Estudos Experimentais

3.4.2.1- Protocolo I – Distensão Gástrica

Seguido o período basal, os animais (n=4) tiveram o estômago distendido por meio da rápida injeção de ar ambiente na ampola retal até alcançarmos o volume de 50ml/Kg. A injeção de ar se deu através do orifício da sonda gástrica usando uma seringa de 50ml. O tempo total desde o início até o final da injeção de ar ambiente foi de em média 2min.

Com o estômago distendido, a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitoradas por mais 45 min, este período foi denominado **distensão gástrica**. Este procedimento visou induzir relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior e está bem descrito por Lehmann et al., (1999). (fig. 01).

3.4.2.2- Protocolo II – Distensão Retal

Seguido o período basal, os animais (n=4) tiveram o reto distendido por meio da rápida injeção de ar ambiente na ampola retal até alcançarmos o volume de 5ml/Kg. A injeção de ar se deu através da sonda retal usando uma seringa de 50ml. O tempo total desde o início até o final da injeção foi de em média 1min.

Com o reto distendido, a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitoradas por mais 45 min, este período foi denominado **distensão retal**. Este procedimento está bem descrito por Huibin et al., (2007).

3.4.2.3- Protocolo III – Distensão Gástrica + Retal

Seguido o período basal, os animais (n=5) tiveram o estômago distendido por meio da rápida injeção de ar ambiente no estômago até alcançarmos o volume de 50ml/Kg. A injeção de ar se deu através do orifício interno da sonda gástrica usando uma seringa de 50ml. O tempo total desde o início até o final da injeção foi de em média 2min. A seguir monitoramos a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI por mais 45 min.

Posteriormente o reto foi distendido por meio da rápida injeção de ar ambiente no balão retal até alcançarmos o volume de 5ml/Kg. A injeção de ar se deu através da sonda retal usando uma seringa de 50ml. O tempo total desde o início até o final da injeção foi de em média 1min.

Com o estômago e o reto distendidos, a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitoradas por mais 45 min, este período foi denominado **distensão gástrica + retal**.

3.4.3- Estudos dos Mecanismos Neurohumorais

Em um grupo separado de animais estudamos os mecanismos neuro humorais relacionados ao aumento da taxa de RTTEEI advindos da distensão retal em cães anestesiados.

3.4.3.1 – Pré-tratamentos farmacológicos

Após anestesia e posicionamento das sondas gástrica e retal, os animais (n=11) foram pré-tratados com atropina (0,15 mg/kg, n=4), um antagonista colinérgico muscarínico inespecífico, hexametônio (10 mg/kg, n=4) um antagonista ganglionar colinérgico nicotínico ou baclofeno (7,0 µg/Kg, n=3) um agonista GABA_B. Todas as drogas foram diluídas em salina e administradas i.v. em *bolus* 30 min antes de cada experimento (fig. 01).

Seguido os tratamentos farmacológicos, monitoramos a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram durante 30min, este período foi denominado **período basal tratado**. A seguir os animais foram submetidos ao protocolo II, onde o reto foi distendido e a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitoradas por mais 45 min, este período foi denominado **distensão retal tratado**.

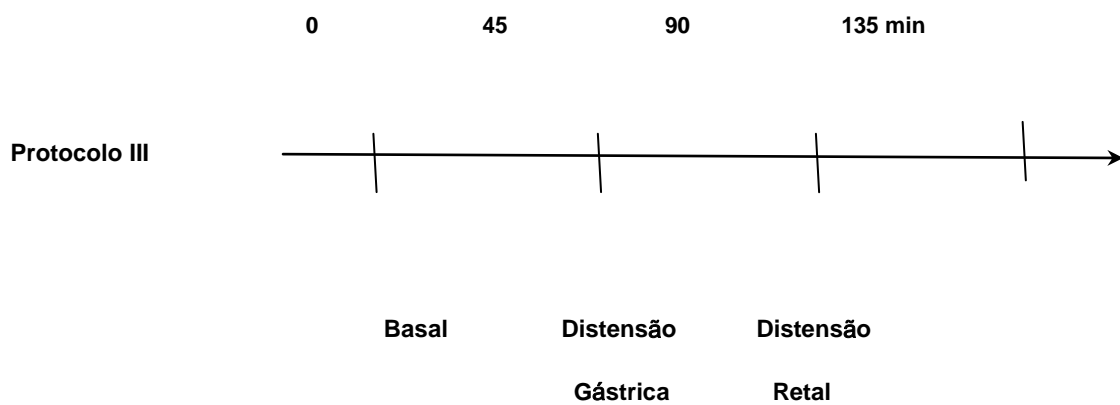
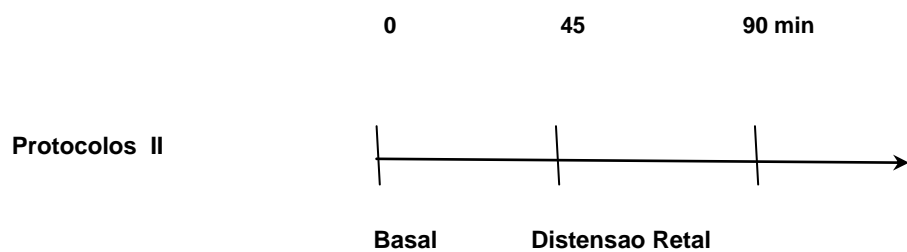
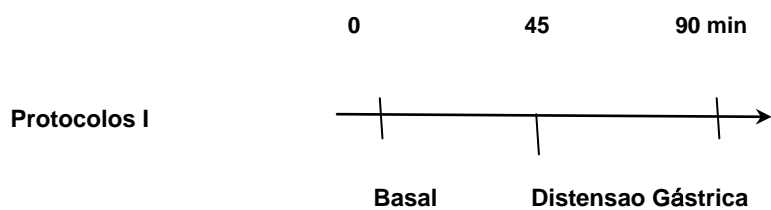
3.4.3.2 – Pré-tratamentos cirúrgicos

Após indução e aprofundamento do plano anestésicos (cetamina 10mg/kg e xilastina 20mg/kg) dos animais procedemos secção da pele ,divulsão da musculatura a nível das proeminências isquiática bilaterais ou (**grupo sham**, n=4). Após identificação dos nervos pudendos, procedemos secção cirúrgica bilateral dos nervos pudendos (n=4).

Seguido a secção dos nervos pudendos monitoramos a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI durante 30min, este período foi denominado **período basal tratado**. A seguir os animais foram submetidos ao protocolo II, onde o reto foi distendido e a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitoradas por mais 45 min, este período foi denominado **distensão retal tratado**.

Noutro grupo de animais, Após indução e aprofundamento do plano anestésico (cetamina 10mg/kg e xilastina 20mg/kg) dos animais, procedemos secção da pele ,divulsão da musculatura paravertebral a nível da musculatura lombar Seguida de laminectomia dos corpos vertebrais das vértebras lombares (L3-L4) (**grupo sham**, n=4), identificamos a medula espinhal, procedemos secção cirúrgica completa da medula espinha a nível lombar, **grupo transecção medular** (n=4).

Protocolos Experimentais



Protocolos Experimentais

Investigação dos Mecanismos Neurohumorais

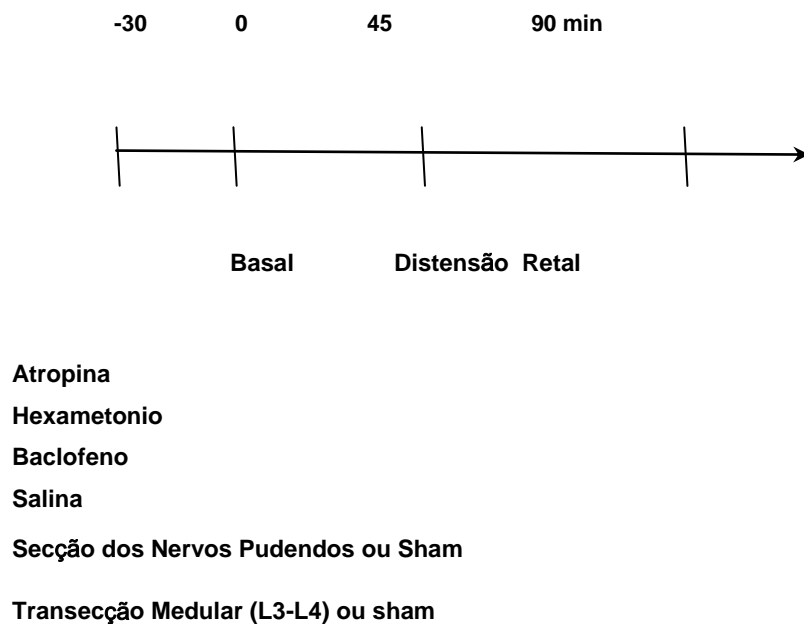


Figura 4– Desenho esquemático dos protocolos experimentais (tempo nas barras não obedece a uma escala temporal). Nos protocolos I, II e III seguido período basal os animais foram submetidos a uma distensão gástrica com ar, retal com balão de látex ou gástrica+retal respectivamente. Noutro grupo de animais investigamos os mecanismos neuro humorais relacionados a aumento da taxa de relaxamentos transitórios do EEI secundário a distensão retal. Os animais foram pré-tratados com atropina (0,15 mg/Kg), hexametonio (10 mg/Kg) ou baclofeno (7,0 µg/Kg) ou sofreram secção bilateral dos nervos pudendos ou ainda transecção medular lombar (L3-L4) antes da distensão retal.

Seguido a transecção medular monitoramos a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitorizados durante 30min, este período foi denominado **período basal tratado**. A seguir os animais foram submetidos ao protocolo II, onde o reto foi distendido e a motilidade esofágica, as pressões gástrica e do EEI foram monitoradas por mais 45 min, este período foi denominado **distensão retal tratado**.

3.5- Parâmetros Estudados e Análises Estatísticas

Os índices relacionados à motilidade gastro-esofágica calculados neste estudo foram adaptados das descrições prévias de Jessen e cols. e Lehmann e cols (1999) .

Consideramos para efeitos de cálculos os relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior como quedas da pressão do EEI a baixo da pressão intragástrica a uma velocidade de 1 mmHg/s. Estas quedas da pressão do EEI não foram precedidas por deglutição – considerado como ausência de motilidade faríngea ou esofágica alta em até 2 s antes dos eventos tidos como rTEEI, de acordo com Lehmann, 1999. Nestes casos os rTEEI foram considerados como induzidos por deglutição e foram excluídos da análise geral da taxa de rTEEI. A diferença de pressão entre o EEI e o estômago necessariamente foi de 2 ou mais mmHg, e a duração dos eventos de rTEEI foram considerados somente os que tiveram 3 ou mais segundos (Mittal et al,1995).

Determinamos o número de eventos de rTEEI ao longo dos períodos estudados e extrapolamos o total para uma hora a fim de comparar os resultados com outros autores, então a taxa de eventos de rTEEI foi dada por hora (eventos/h)

Também determinamos a latência (em minutos) do início de cada período, seja o período basal, a distensão gástrica ou retal, para o surgimento do primeiro evento de rTEEI. Embora este índice não apresente importância clínica, foi determinado como um índice complementar para análise dos rTEEI. Determinamos também a duração (s) dos eventos de rTEEI que foram todos como a média de todos os eventos de cada período estudado.

A pressão do EEI foi definida como a média de pressão dos 4 canais que monitoraram continuamente esta região esofágica e foi expressão em mmHg.

A taxa de rTEEI (eventos/h), as pressões gástrica e retal (mmHg), a latência (min) e a duração dos rTEEI (s) foram calculadas pela média dos achados de cada experimento e estão expressas na forma de média±EPM.

As análises estatísticas foram feitas usando teste t de Student's para médias não pareadas por meio de um programa de computador Sigma Plot™ 5.0 para dois grupos isolados, ou ANOVA para mais de dois grupos. Os valores de $p < 0.05$ foram tidos como significativos quando comparados ao período basal ou tratado de cada grupo respectivo.

4- RESULTADOS

4.1- Efeitos da distensão gástrica sobre a motilidade esofágica e gástrica.

A figura 5 resume os efeitos da distensão gástrica sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados. Em relação ao período basal ($2,8 \pm 0,8$ eventos/h), a distensão gástrica com ar aumentou ($p < 0,05$) a taxa de rTEEI ($6,0 \pm 1,0$ eventos/h). Já a tabela 1 mostra as variações nos parâmetros da motilidade esofágica secundárias à distensão gástrica. Comparada ao período basal, a distensão gástrica diminuiu ($p < 0,05$) a latência e aumentou a duração dos rTEEI dos animais. Nota-se que a distensão gástrica não modificou a pressão intragástrica ou mesmo a pressão do EEI (Tab 1).

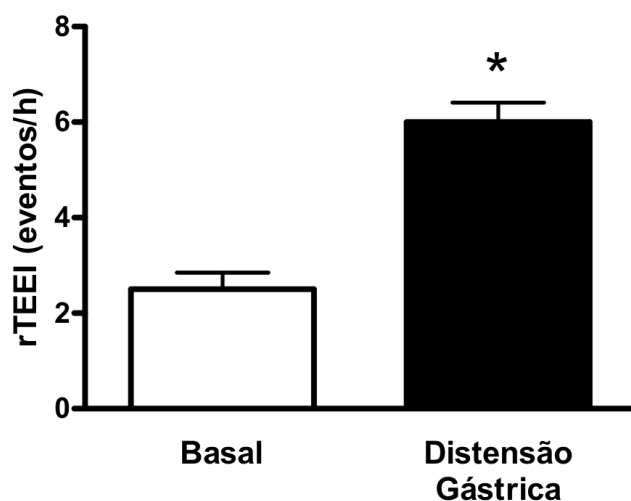


Fig. 5 - Efeitos da distensão gástrica sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados.

O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamada de **Basal** ($n=26$, □), a seguir os animais sofreram distensão gástrica por meio injeção intragástrica de ar (**Distensão Gástrica**, $n=5$, ■). As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p < 0,05$ vs. basal. - teste “T” Student.

4.2- Efeitos da distensão retal sobre a motilidade esofágica e gástrica.

A figura 6 resume os efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados. Em relação ao período basal ($2,8 \pm 0,8$ eventos/h), a distensão retal com balão aumentou ($p < 0,05$) a taxa de rTEEI ($5,2 \pm 1,8$ eventos/h). Já a tabela 2 mostra as variações nos parâmetros da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão retal. Comparada ao período basal, a distensão retal diminuiu ($p < 0,05$) a latência e aumentou a duração dos rTEEI dos animais. Nota-se que a distensão retal não modificou a pressão intragástrica ou mesmo a pressão do EEI (Tab 2).

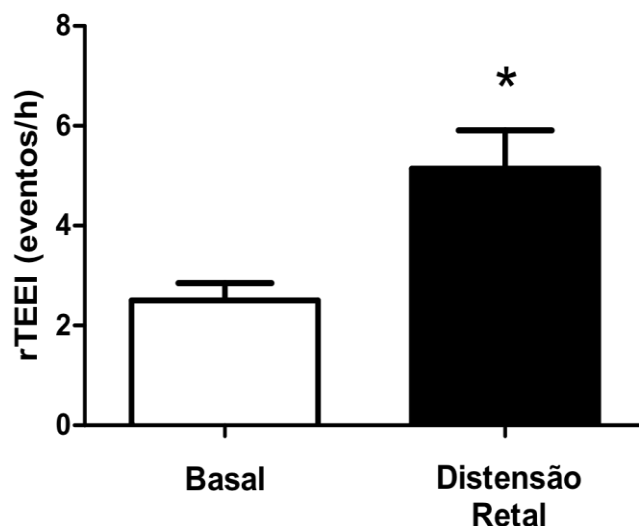


Fig. 6 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados.

O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamada de **Basal** ($n=26$, □), a seguir os animais sofreram distensão retal por meio de balão de látex (**Distensão Retal**, $n=5$, ■). As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p < 0,05$ vs. basal. teste “T” Student.

4.3- Efeitos da distensão gástrica + retal sobre a motilidade esofágica e gástrica.

A figura 7 resume os efeitos da distensão gástrica + retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados. Em relação ao período basal ($2,8 \pm 0,8$ eventos/h), a distensão gástrica + retal com ar e balão, respectivamente aumentou ($p < 0,05$) a taxa de rTEEI ($9,5 \pm 2,5$ eventos/h). Já a tabela 3 mostra as variações nos parâmetros da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão gástrica + retal. Comparada ao período basal, a distensão gástrica + retal diminuiu ($p < 0,05$) a latência e aumentou a duração dos rTEEI dos animais. Nota-se que a distensão gástrica + retal não modificou a pressão intragástrica ou mesmo a pressão do EEI (Tab 3).

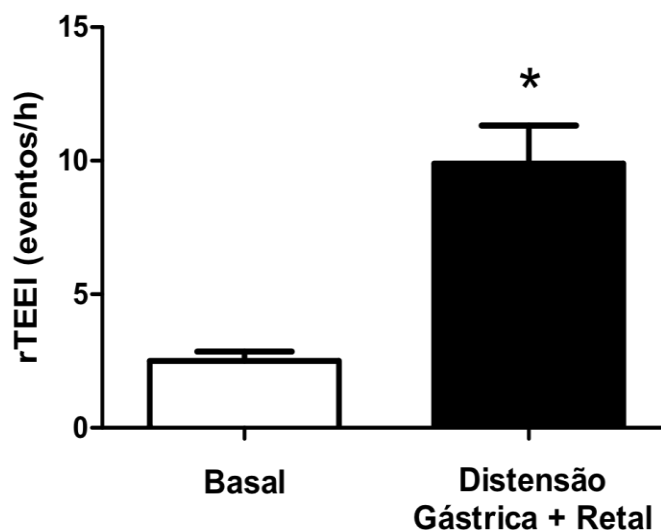


Fig. 7 - Efeitos da distensão gástrica + retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados.

O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamada de **Basal** ($n=26$, □), a seguir os animais sofreram distensão gástrica com ar seguida de retal por meio de balão de látex (**Distensão Gástrica + Retal** ($n=5$, ■). As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p < 0,05$ vs. basal. - teste "T" Student.

Tabela 1 – Efeitos da distensão gástrica (n=5) ou distensão retal (n=5) e distensão gástrica seguida da distensão retal (n=4) sobre a taxa(eventos/h), a latência para o primeiro (min) e a duração média (s) de relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior e sobre as pressões (mmHg) no EEI e gástrica em cães anestesiados.

Grupos/Períodos	Número de rTEEI/hora	Latência 1º. rTEEI (min)	Duração(s)	Pressão (mmHg)	
				EEI	Gástrica
Basal (n=26)	2,8±0,8	29,0±4,0	17,0±0,8	23,5±2,5	3,25±0,5
Distensão Gástrica (n=5)	6,0±1,0*	3,5±1,5*	44,5±5,1*	20,5±3,5	4,50±1,5
Distensão Retal (n=5)	5,2±1,8*	6,8±2,5*	42,5±5,4*	20,3±2,5	2,7±1,7
Distensão Gástrica/Retal (n=4)	9,5±2,5*	4,5±1,5*	46,6±4,5*	23,8±4,7	4,01±2,5

***, p<0,05 vs. Basal (teste “T” Student), (n) – número de animais, rTEEI – relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior, EEI - esfíncter esofágico inferior.**

4.4- Mecanismos neurohumorais relacionados aos efeitos da distensão retal sobre a motilidade esofágica e gástrica

4.4.1- Pré-tratamentos farmacológicos

A figura 8 resume os efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados pré-tratados com atropina. O pré-tratamento com atropina preveniu o aumento ($p > 0.05$) da taxa de rTEEI ($3,3 \pm 2,0$ eventos/h) quando comparado ao período basal ($2,8 \pm 0,8$ eventos/h). Na tabela 4 mostram-se as variações da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão retal dos animais pré-tratados com atropina. Em relação ao período basal, a distensão retal não modificou a latência ou a duração dos rTEEI nos animais pré-tratados com atropina. Nota-se que o pré-tratamento com atropina diminuiu ($p < 0,05$) a pressão do EEI, mas não modificou a pressão intragástrica (Tab 4).

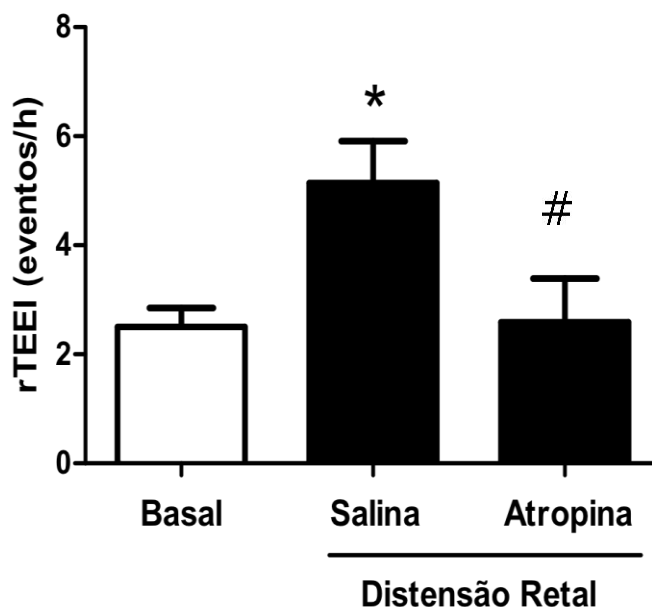


Fig. 8 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados pré-tratados com atropina.

O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamado de Basal ($n=26$, □), a seguir os animais foram pré-tratados com salina ($n=5$, ■) ou atropina ($0,15\text{mg/kg}$, i.v, $n=4$, ■). Após 30min sofreram distensão retal por meio de balão de látex. As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p < 0,05$ vs. basal. -# $p < 0,05$ vs salina - ANOVA seguido do teste Student-Newman-Keuls.

A figura 9 resume os efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados pré-tratados com hexametônio. O pré-tratamento com hexametônio não preveniu o aumento ($p>0,05$) da taxa de rTEEI ($5,6\pm 2,3$ eventos/h) quando comparado ao período basal ($2,8\pm 0,8$ eventos/h). Na tabela 4 mostram-se as variações da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão retal dos animais pré-tratados com hexametônio. Em relação ao período basal, a distensão retal diminuiu a latência e aumentou a duração dos rTEEI nos animais pré-tratados com hexametônio. Nota-se que o pré-tratamento com hexametônio diminuiu ($p<0,05$) a pressão do EEI assim como a pressão intragástrica (Tab 4).

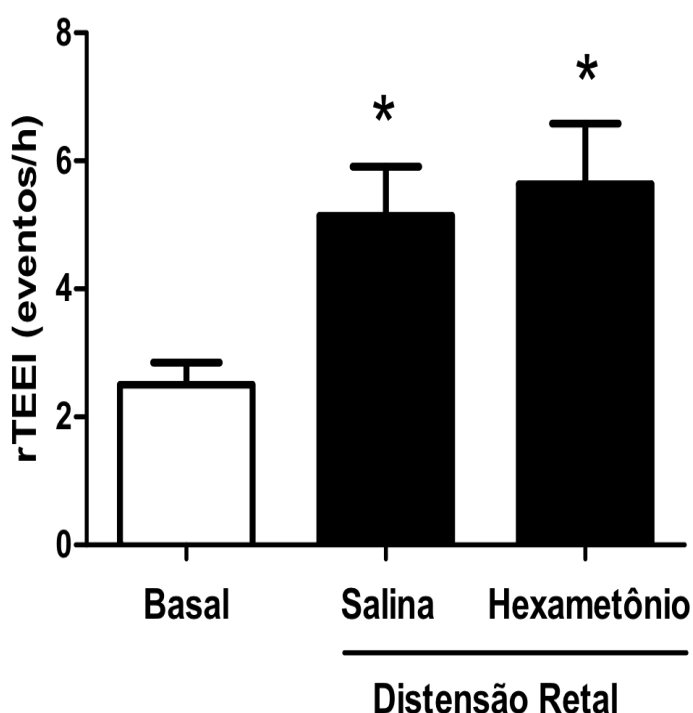


Fig. 9 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados pré-tratados com hexametônio.

O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamado de **Basal** (n=26, □), a seguir os animais foram pré-tratados com **salina** (n=5, ■) ou **hexametônio**. (10mg/kg, i.v, n=4, ■). Após 30min sofreram distensão retal por meio de balão de látex. As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p<0,05$ vs. basal - ANOVA seguido do teste Student-Newman-Keuls.

A figura 10 resume os efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados pré-tratados com baclofeno. O pré-tratamento com baclofeno preveniu o aumento ($p>0.05$) da taxa de rTEEI ($1,9\pm 0,9$ eventos/h) quando comparado ao período período basal ($2,8\pm 0,8$ eventos/h). Na tabela 4 mostram-se as variações da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão retal dos animais pré-tratados com baclofeno. Em relação ao período basal, a distensão retal não modificou a latência ou a duração dos rTEEI nos animais pré-tratados com baclofeno. Nota-se que o pré-tratamento com baclofeno aumentou ($p<0,05$) a pressão do EEI assim como a pressão intragástrica (Tab 4).

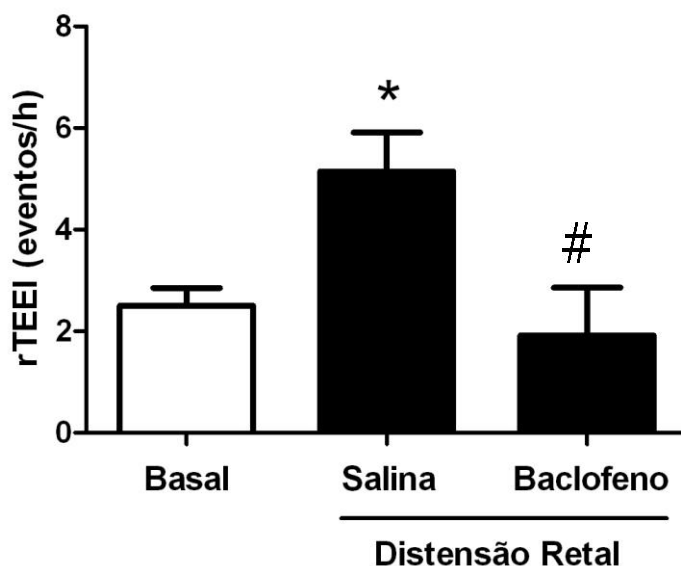


Fig. 10 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados pré-tratados com baclofeno.

O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamado de **Basal** (n=26,), a seguir os animais foram pré-tratados com **salina** (n=5, ■) ou **baclofeno** (10mg/kg, i.v, n=4, ■). Após 30min sofreram distensão retal por meio de balão de látex. As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p<0,05$ vs. basal. - # $p<0,05$ vs salina -ANOVA seguido do teste Student-Newman-Keuls.

Tabela 2 – Efeitos dos pré-tratamentos farmacológicos (atropina - 0,15mg/Kg (n=4); hexametonio 10mg/Kg, n(n=4) ou baclofeno 7,0 µg/Kg, n=4) sobre taxa (eventos/h), a latência (min) e a duração média (s) dos relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) e sobre as pressões (mmHg) no EEI e gástrica adivindos da distensão retal com balão em cães anestesiados.

Grupos/Períodos	Número de RTEEI/hora	Latência 1°. RTEEI (min)	Duração (s)	Pressão (mmHg)	
				EEI	Gástrica
Basal (n=26)	2,8±0,8	29,0±4,0	17,0±0,8	23,5±2,5	3,25±0,5
Distensão Retal + salina (n=5)	5,2±1,8*	6,8±2,5*	42,5±5,4*	20,3±2,5	3,7±1,7
Distensão Retal + Atropina (n=4)	3,2±2,0#	26,8±2,5#	18,5±5,4#	15±3,2*#	4,5±1,2
Distensão Retal + Hexametonio (n=4)	5,6±2,3*	8,5±2,2*	36,5±13,7*	9,7±3,5*#	1,7±1,6#*
Distensão Retal + Baclofeno (n=4)	1,9±0,9#	27,8±2,3#	12,5±5,4#	35±3,2*#	5,5±1,6#*

***, p<0,05 vs. Basal e # p<0,05 vs. Salina (teste Student-Newman-Keuls); (n) – número de animais; rTEEI – relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior; EEI - esfíncter esofágico inferior.**

4.4.2- Pré-tratamentos cirúrgico

A figura 11 resume os efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados sob secção bilateral dos nervos pudendos. A secção dos nervos pudendos preveniu o aumento ($p>0.05$) da taxa de rTEEI ($2,0\pm 1,7$ eventos/h) quando comparado ao período basal ($2,4\pm 0,9$ eventos/h). Na tabela 4 mostram-se as variações da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão retal dos animais submetidos à secção dos nervos pudendos. Em relação ao período basal, a distensão retal não modificou a latência ou a duração dos rTEEI nesses animais. Da mesma forma a pressão do EEI bem como a pressão intragástrica não foram alteradas após a distensão retal nos animais sob secção dos nervos pudendos (Tab 4).

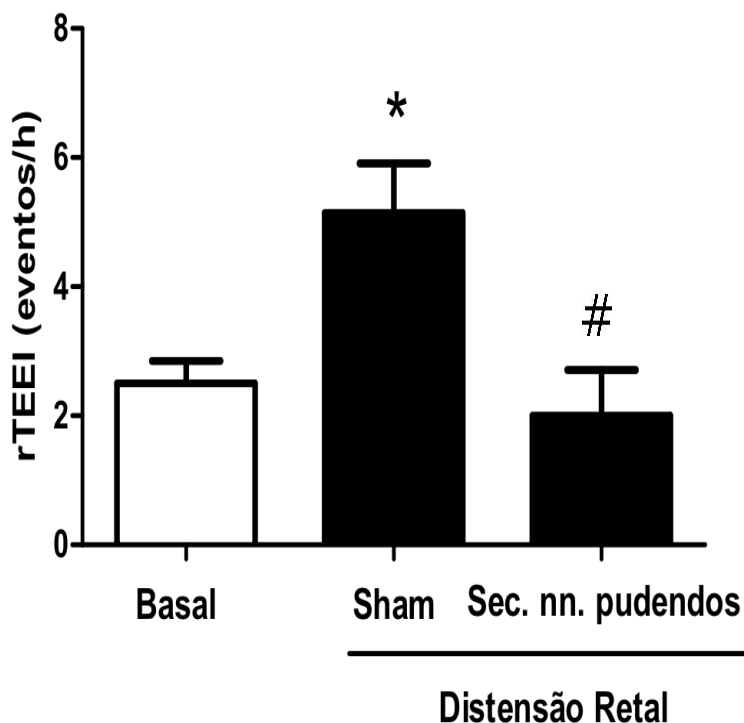


Fig. 11 - Efeitos da distensão retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados pré-tratados cirúrgicamente com secção dos nervos pudendos.

Os animais foram submetidos à secção bilateral dos nervos pudendos (**Sec. nn. pudendos**, $n=4$, ■) ou falsa cirurgia (**Sham**, $n=5$, ■). A seguir O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamado de **Basal** ($n=18$), posteriormente sofreram distensão retal por meio de balão de látex. As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p<0,05$ vs. basal. -# $p<0,05$ vs Sham -ANOVA seguido do teste Student-Newman-Keuls.

A figura 12 resume os efeitos da distensão retal sobre a taxa de rTEEI de cães anestesiados sob transecção medular lombar (L3-L4). A transecção medular preveniu o aumento ($p>0.05$) da taxa de rTEEI ($2,5\pm 1,5$ eventos/h) quando comparado ao período período basal ($2,4\pm 0,9$ eventos/h). Na tabela 4 mostram-se as variações da motilidade esofágica e gástrica secundárias à distensão retal dos animais submetidos à transecção medular. Em relação ao período basal, a distensão retal não modificou a latência ou a duração dos rTEEI nesses animais. Da mesma forma a pressão do EEI bem como a pressão intragástrica não foram alteradas após a distensão retal nos animais sob transecção medular (Tab 4).

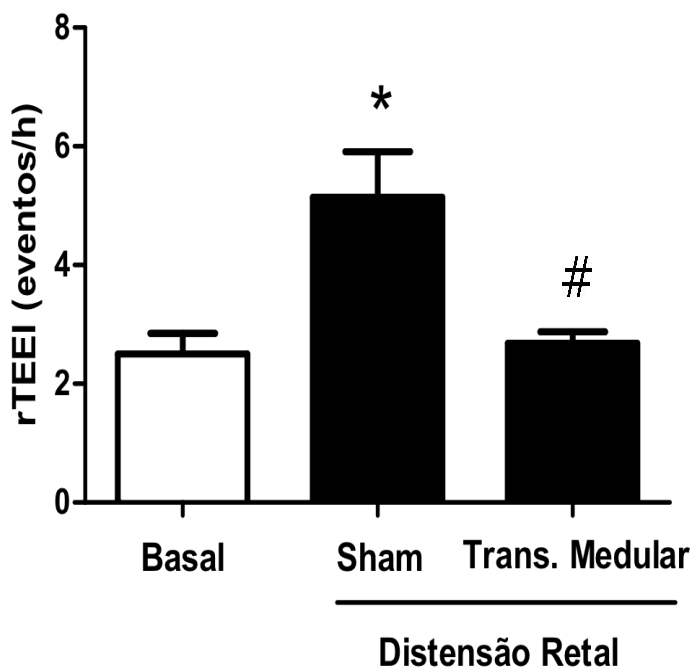


Fig. 12- Efeitos da distensão retal sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) em cães anestesiados pré-tratados cirúrgicamente com Transsecção medular.

Os animais foram submetidos à (Sec. Transmedular, (n=4, ◦) ou falsa cirurgia (Sham, n=5, ■). A seguir O número de rTEEI observados em todos os animais nos primeiros 45 min foi chamado de **Basal** (n=18,.) , posteriormente sofreram distensão retal por meio de balão de látex. As barras verticais representam a média dos eventos de rTEEI de cada período estudado. Já as linhas verticais indicam o erro padrão da média. * $p<0,05$ vs. basal.# $p<0,05$ vs Sham -ANOVA seguido do teste Student-Newman-Keuls.

Tabela 3 – Efeitos dos pré-tratamentos cirúrgicos (secção dos nervos pudendos ou transecção medular completa entre L3-L4) sobre a taxa (eventos/h), a latência (min) para o primeiro e a duração média (s) de relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico inferior (rTEEI) e sobre as pressões (mmHg) no EEI e gástrica adivindas da distensão retal com balão em cães anestesiados.

Grupos/Períodos	Número de RTEEI/hora	Latência 1º. RTEEI (min)	Duração (s)	Pressão (mmHg)	
				EEI	Gástrica
Basal (n=18)	2,4±0,9	31,0±3,0	15,0±0,5	22,1±2,7	3,3±0,7
Distensão Retal Sham (n=5)	5,2±1,8*	6,8±2,5*	42,5±5,4*	20,3±2,5	3,7±1,7
Distensão Retal + Secção dos nervos pudendos (n=4)	2,0±1,7#	23,0±1,4#	19,5±7,4#	18,0±0,6	3,7±2,0
Distensão Retal + Transecção Medular (L3-L4) (n=4)	2,5±1,5#	22,3±0,5#	17,5±4,5#	23,0±4,7	2,01±1,3

***, p<0,05 vs. Basal e # p<0,05 vs. Sham (teste Student-Newman-Keuls); (n) – número de animais; rTEEI – relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior; EEI - esfíncter esofágico inferior.**

5- DISCUSSÃO

O presente estudo demonstra que a distensão gástrica ou retal isoladas ou ainda a distensão gástrica associada à retal aumentam a taxa de relaxamentos transitórios do esfíncter esofágico (rTEEI) em cães anestesiados. Ainda demonstramos que os pré-tratamentos com atropina ou bloclofeno, mas não com hexametônio, assim como a secção dos nervos pudendos ou a transecção medular lombar foram efetivos em prevenir o aumento da taxa de rTEEI advindos da distensão retal isolada.

A metodologia utilizada neste estudo, descrita em está bem fundamentada na literatura. Tem sido empregue em outros estudos desenvolvidos por nosso grupo. Distensão gástrica em cães é um modelo largamente utilizado para promover relaxamentos transitórios do EEI (Lehmann, et al 199 e 2002; Palheta, 2011). Já o modelo de distensão retal foi proposto por Yong Lei *et al* (2005), mas a sua utilização como promotor de rTEEI é uma proposta nova do nosso estudo.

O relaxamento do esfíncter esofágico inferior ocorre por reflexo quando a pressão intra gástrica cai após refeições ou ingesta de ar. Fatores que controlam os índices de rTEEI não estão bem esclarecidos. Mecanismos de inicio do rTEEI podem ser através de distensão gástrica, ativação de mecanoreceptores ou por ativação quimiorreceptores localizados em áreas sub cárdica estão fortemente relacionados ao relaxamento pos prondial do estomago proximal.

A distensão gástrica parece ser o maior estímulo para o aparecimento de rTEEI que ocorre através da ativação de reflexos envolvendo fibras vagais aferentes do estomago, áreas cerebrais centrais em particular o núcleos tractus solitarius e vias inibitórias eferentes do esfíncter inferior do esôfago. Nossos dados demonstram pela primeira vez que a distensão mecânica com balão de látex no reto promove rTEEI similar a distensão gástrica com ar.

Infusões no colon de lactose ou gorduras de cadeias curtas alteram diretamente a função do esfíncter inferior do esôfago em humanos promovendo o aparecimento rTEEI associado com refluxo provavelmente por modulação de quimio receptores colonicos (Ropert *et al.*, 1996). Isto é possível que através do gás produzido após a infusão de lactose no colon estimularia mecano receptores sensíveis a distensão.

Distensão retal pode então participar da regulação da motilidade esofágica assim como do refluxo gástrico esofágico. Como demonstrado por nosso estudo, onde evidenciamos um aumento da taxa rTEEI dos animais sob distensão retal isolada ou pela gástrica associada a distensão retal.

Este fato pode ser corroborado pelos estudos de Weston, et al (1998) que demonstram que pacientes com doença inflamatória intestinal apresentam uma maior taxa de sintomas gastrointestinais altos como azia e pirose, o que sugere uma maior taxa de rTEEI destes pacientes. A fisiopatologia desse fenômeno ainda não está bem definida, o que pode se configurar numa nova possibilidade de investigação desta doença.

Outra possibilidade de explicar o resultado da ativação de reflexos gastrointestinais, podem ser mecanismos de alteração da motilidade do esfíncter inferior do esôfago relacionados direta ou indiretamente à ação do estômago proximal ou do esvaziamento gástrico sobre o EEI. Distensão retal por si só promove relaxamento gástrico em ratos anestesiados (Bojo, 1996) e diminui o esvaziamento gástrico destes animais. Já Gondim e colaboradores (2000) tem demonstrado que a transecção da medula espinhal alta pode levar a um retardo do esvaziamento gástrico por aumento da distensão colônica secundária a constipação nesses animais. Tais observações relacionam a fisiologia colônica às porções altas do TGI.

Ainda nessa linha de pensamento, a distensão do colon inibindo a motilidade gástrica é suprimida pelo hexametonio Yanfen Jiang et al (2009) sugere que receptores ganglionares nicotínicos estariam envolvidos na via inibitória cologastrica. Foi também demonstrado que K-agonistas como a fedotozine podem bloquear a distensão colônica inibindo a motilidade gástrica e seu esvaziamento (Piche, et al 2000).

Estimulação mecânica retal por distensão pode levar ao aparecimento de peptídeos intestinais plasmáticos como PYY (Ropert, et al., 1996), este peptídeo está envolvido no aparecimento de rTEEI. Entretanto a resposta rápida de rTEEI devido à distensão retal com balão sugere uma via neural.

O pré tratamento de animais com atropina e baclofeno previnem o aumento da frequência do rTEEI através da distensão retal, essas observações são demonstradas em trabalhos de Mital e Cols. e Lehmann e cols 2002, demonstrando que o pré tratamento com atropina e baclofeno reduz a ocorrência de rTEEI em humanos e cães devido à distensão gástrica.

Relatos da literatura sugere que centros medulares integrariam informações sensitivas entre o estômago e faringe podendo controlar também o aparecimento de rTEEI. Reduzir a frequência dos episódios de refluxo por inibição do aparecimento de rTEEI oferece um potencial significativo para o tratamento dos pacientes com doença do refluxo.

Como a fisiopatologia da doença do refluxo gastroesofágico é multifatorial, está claro que alterações funcionais do esfíncter inferior do esôfago é de importância crucial para a

doença, podemos portanto sugerir que a distensão mecânica retal com balão possa influenciar os mecanismos de controle do esfíncter inferior do esôfago através de mediação neural.

Em relação ao período basal a distensão gástrica com ar aumentou a taxa de rTEEI. Comparado ao período basal a distensão gástrica diminuiu a latência e aumentou a duração dos rTEEI dos animais. Nota-se que a distensão gástrica não modificou a pressão intragástrica ou mesmo a pressão do esfíncter inferior do esôfago. Já em relação ao período basal, a distensão retal, com balão aumentou a taxa rTEEI. comparada ao período basal, a distensão retal diminuiu a latência e aumentou a duração dos rTEEI dos animais. Nota-se que a distensão retal não modificou a pressão intragástrica ou mesmo a pressão do esfíncter inferior do esôfago. Desse modo a distensão retal, pode como a distensão gástrica, se configurar como um mecanismo de promoção de rTEEI, como mais uma via de possível entendimento da doença do refluxo gastroesofágico.;

Os mecanismos neurohumorais e vias relacionadas aos efeitos da distensão retal sobre a motilidade esofágica e gástrica foram investigados. O pré tratamento dos animais com atropina preveniu o aumento da taxa de rTEEI quando comparada ao período basal. Em relação ao período basal a distensão retal não modificou a latência ou a duração dos rTEEI nos animais pré tratados com atropina. Nota-se que o pré tratamento com atropina diminuiu a pressão do esfíncter inferior do esôfago mais não modificou a pressão intra gástrica. Este pré-tratamento é suportado pelos achados de Mital, 2002 , nos estudos em humanos onde o pré-tratamento com atropina, a despeito de diminuir a pressão do EEI, promoveu diminuição da taxa de relaxamentos transitórios do EEI.

O pré tratamento dos animais com hexametonio não preveniu o aumento da taxa de rTEEI quando comparada ao período basal. Em relação ao período basal a distensão retal diminuiu a latência e aumentou a duração dos rTEEI nos animais pré tratados com hexametonio. Portanto o pré-tratamento com hexametonio diminuiu a pressão do esfíncter inferior do esôfago assim como a pressão intragástrica. Nota-se que o fenômeno parece ser mediado por gânglios neuroautônômicos. De fato Yanfen Jiang et al (2009), têm demonstrado que algumas fibras vagais não sofrem controle ganglionar, como se fora conexões diretas com o EEI, o que poderia ajudar a entender esses achados.

O pré tratamento dos animais com baclofeno preveniu o aumento da taxa de rTEEI comparado ao período basal. Em relação ao período basal a distensão retal não modificou a latência ou a duração do rTEEI nos animais pré tratados com baclofeno portanto o pré

tratamento com baclofeno aumentou a pressão do esfíncter inferior do esôfago assim como a pressão intragástrica. Do mesmo modo, Lehmann et al (1999) demonstraram que o aumento da taxa de relaxamentos transitórios secundários a distensão gástrica são sensíveis ao pré-tratamento com baclofeno, um agonista GABAérgico tipo B, sugerindo uma mediação central deste fenômeno.

Em relação à mediação neural, investigamos o efeito dos pré-tratamentos cirúrgicos seja pela secção dos nervos pudendos ou pela transecção medular lombar baixa. De fato a secção bilateral dos nervos pudendos preveniu o aumento da taxa de rTEEI quando comparada ao período basal. Em relação ao período basal a distensão retal não modificou a latência ou a duração do rTEEI nestes animais da mesma forma a pressão do esfíncter inferior do esôfago bem como a pressão intragástrica não foram alterados após a distensão retal nos animais sob secção dos nervos pudendos.

A mediação sensitiva das porções terminais do reto de cães se dá pela inervação pudenda. Tal fato não pode ser esquecido, tendo em vista que a dor, por si só pode promover relaxamento gástrico, como demonstrado por Bojo, et al 1996 onde o estômago de ratos é relaxado pela compressão testicular. Entretanto não evidenciamos no nosso estudo diminuição da pressão intragástrica nos animais estudados. O que pode excluir a dor como um dos mecanismos de relaxamento do EEI é o fato que os animais estavam em plano anestésico profundo.

A transecção medular lombar baixa também preveniu o aumento da taxa de rTEEI quando comparada ao período basal. Em relação ao período basal a distensão retal não modificou a latência ou a duração do rTEEI nestes animais da mesma forma a pressão do esfíncter inferior do esôfago bem como a pressão intragástrica não foram alterados após a distensão retal nos animais sob transecção medular. Deste modo a transecção medular baixa promoveu secção das porções parassimpáticas sacrais, o que pode sugerir que a inervação sensitiva e/ou autonômica também estão relacionadas ao fenômeno de aumento da taxa de relaxamentos transitórios do EEI secundária a distensão retal.

Inicialmente, acreditava-se que o fator patogênico primário da DRGE era a deslocação proximal da junção esofagogástrica, representada pela hérnia hiatal. Em 1971, Cohen e Harris sugeriram que a pressão basal baixa de EEI era mais importante para o desenvolvimento crônico da DRGE (COHEN, 2006).

Com o advento da manometria, considerado o método de eleição para a avaliação qualitativa e quantitativa da atividade motora esofágica e do EEI pôde-se detectar uma onda

peristáltica no esôfago trafegando em direção ao estômago simultâneo a um relaxamento do EEI (JONES *et al*, 2002). Sem que houvesse nenhuma deglutição, o EEI relaxava espontaneamente por um período prolongado e, neste momento, ocorria uma queda no pH esofágico, caracterizando um episódio de RGE, a esse processo denominou-se de RTEEI. Assim, o fator principal da DRGE foi atribuído ao RTEEI (GONZALEZ *et al*, 2000).

Em 1964, foram observados pela primeira vez o RTEEI por McNally *et al*, mas só em 1980 sua relação com DRGE foi descrita com detalhes (CASTELL, 2004). Considerado o fator responsável pela maioria dos episódios de refluxo em pessoas saudáveis e em pacientes com DRGE (RICHTER, 2004). O RTEEI consiste em uma queda abrupta na pressão do EEI até o nível da pressão intragástrica que não é desencadeado pela deglutição. A duração é, tipicamente, maior do que a de um relaxamento induzido pela deglutição, durando de 10 a 45 segundos. Neste sentido, o presente estudo ao utilizar um sistema de manometria perfusional de baixa complacência, com sonda de 08 canais, sendo 04 canais destinados ao EEI, ratificou o estudo de Neves *et al* (2010) ao observar também que a DR desencadeou relaxamentos que perduraram por cerca de 42 segundos, tempo de relaxamento bem superior ao encontrado em animais não distendidos (período basal), caracterizando um RTEEI induzido pela DR.

Estudos mais recentes têm enfatizado essa importância do aumento da taxa de RTEEI como o principal mecanismo do RGE; no entanto, não se resume a uma fraqueza relativa do EEI, pois há DRGE em pacientes que apresentam EEI hipertônicos (NEBEL e FORNES, 1976; KAHRILAS, 2008). De fato, levando-se em consideração os valores da pressão do EEI durante a DR no presente estudo, apesar de encontrar-se em níveis fisiológicos (HERBELLA *et al*, 2007), inclusive valores que chegam a ser 20 vezes superiores a pressão intragástrica, apesar disto caracteriza-se um RTEEI, através do tempo de relaxamento do EEI dos animais submetidos a DR ser bem superior ao encontrado nos animais não submetidos a DR (NEVES *et al*, 2010).

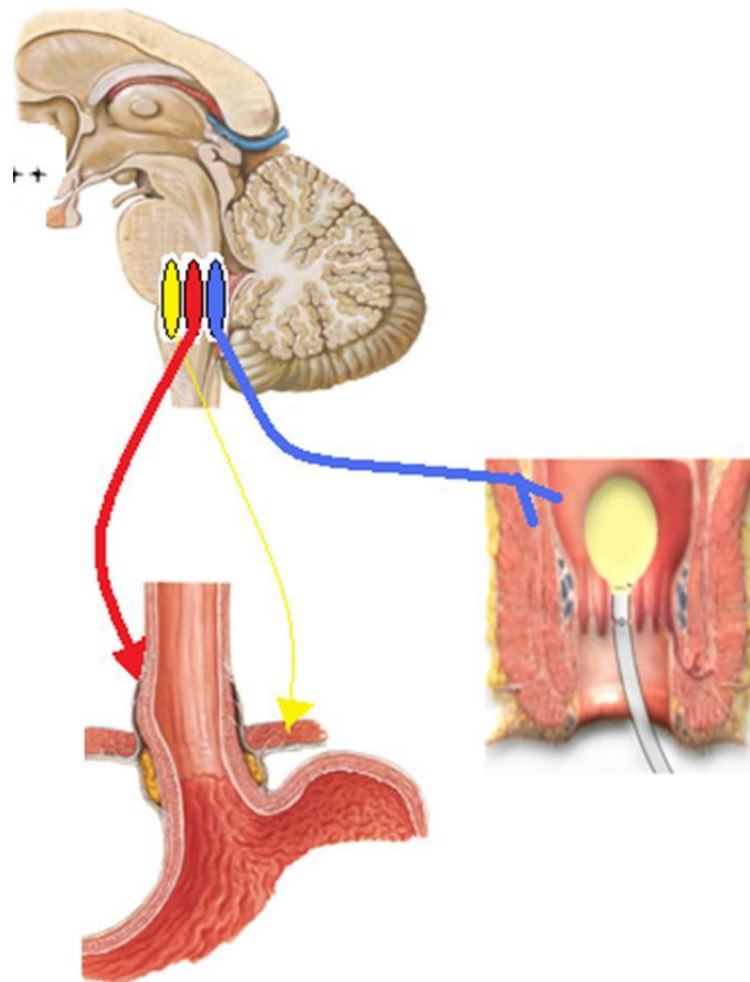
É bem verdade que o tônus do EEI é, primariamente, miogênico. Contudo, o relaxamento do EEI em resposta a deglutição parece ser mediada por estímulo neuronal (GONZALEZ, 2000). Este é um mecanismo absolutamente fisiológico e pode ocorrer em pacientes com RGE ou não, permitindo a eliminação de gás proveniente de aerofagia. Mas em alguns indivíduos, além do ar também reflui líquido de natureza ácida ou não. Naqueles indivíduos em que reflui muito líquido ocorre uma enfermidade por RGE.

O estudo de Ahmed Shafik (2003) chamou a atenção para possível existência de uma relação entre condições clínicas do esôfago e do trato gastrointestinal baixo,

denominando de “síndrome esôfago-retal”, pois, verificou-se uma alta incidência de constipação intestinal em pacientes com acalásia esofágica. Além disso, outros estudos notaram que os pacientes com síndrome do cólon irritável e com constipação intestinal, queixavam-se, frequentemente, de sintomas no TGI superior (NEUMANN, 2008; ZARATE, 2009). De fato, cerca de 25 a 51% dos pacientes com tais enfermidades apresentam o RGE (NEUMANN, 2008).

A falta de informações disponíveis na literatura a cerca da correlação da dismotilidade esofágica e retardo no trânsito colônico ou mesmo a co-existência de distúrbios evacuatórios que, mediante retenção de material fecal e distensão retal, poderia potencialmente influenciar a motilidade esofágica via reflexo reto-esofágico inibitório, estimulou necessárias investigações científicas a respeito desse tema.

Em resumo, nossos achados sugerem a existência de um novo reflexo, ora denominado de reflexo reto-esofágico, mediado pela distensão retal levando ao aumento da taxa de relaxamentos transitórios do EEI de cães anestesiados, sugerindo um reflexo ascendente via nervos pudendos, passando pela medular até o sistema nervoso central, com mediação GABAérgica B e descendente ao EEI via vago, com neurotransmissão periférica colinérgica. Entretanto, sabemos que tais estudos foram difíceis de ser conduzidos, uma vez que nem sempre temos as condições experimentais mais avançadas. Desse modo, sugerimos novos estudos com outras espécies na tentativa de estabelecer esse novo reflexo gastrointestinal.



Graça et al 2010

CONCLUSÕES

- 1- A distensão retal isolada ou associada a distensão gástrica aumenta a taxa de rTEEI em cães anestesiados;
- 2- A participação da transmissão colinérgica muscarínica está relacionada ao aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados evidenciada mediante o pré-tratamento com Atropina (Bloqueador Muscarínico);
- 3- A participação da via colinérgica nicotínica ganglionar não está relacionada ao aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados evidenciada mediante o pré-tratamento com Hexametônio (Bloqueador ganglionar);
- 4- A participação da via GABAérgica está relacionada ao aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados evidenciada mediante o pré-tratamento com baclofeno (Agonista GABA_B central);
- 5- A participação da transmissão nervosa aferente/eferente via nervos pudendos está relacionada ao aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados evidenciada mediante o secção cirúrgica bilateral dos nervos pudendos;
- 6- A participação da transmissão nervosa aferente/eferente via medula espinhal está relacionada ao aumento da taxa de rTEEI decorrente da DR em cães anestesiados evidenciada mediante a transecção medular completa lombar entre L3-L4;
- 7- Sugerimos a existência de um novo reflexo gastrointestinal inibitório, dado pelo aumento da taxa de rTEEI secundário à distensão retal, ora denominado de **REFLEXO RETO-ESOFÁGICO**.

7- REFERÊNCIAS

AHMED, S. Anorectal motility in patients with achalasia of the esophagus: recognition of an esophago-rectal syndrome. **BMC Gastroenterology**.3:28. 2003.

ANDREOLLO, N.A.; LOPES, L.R.; COELHO-NETO, J.S. Gastroesophageal reflux disease: what is the effectiveness of diagnostic tests?. **Arq Bras Cir Dig**. 23(1):6-10. 2010.

BARROS SGS. Doença do refluxo gastroesofágico – prevalência, fatores de risco e desafios... **Arq Gastroenterol** 42;71:2005

BEAVO, J.A. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: functional implications of multiple isoforms. **Physiological Reviews**.; v. 75, p. 725-745. 1995.

BOLOTINA, V.M.; NAJIBI, S.; PALACINO, J.J.; PAGANO, P.J.; COHEN, R.A. Nitric oxide directly activates calcium-dependent potassium channels in vascular smooth muscle. **Nature**. v. 368, p. 850-853. 1994.

BOULANT, J.; FIORAMONTI, J.; DPOIGNY, M. Cholecystokinin and nitric oxide in transient lower esophageal sphincter relaxation to gastric distension in dogs. **Gastroenterology**, 107:1059-66, 1994.

BURNSTOCK, G.; CAMPBELL, G.; BENNETT, M.; HOLMAN, M. E. Inhibition of smooth muscle of the taenia coli. **Nature**. 200: 581-582. 1963.

CASTELL, D.O.; MURRAY, J.A.; TUTUIAN, R.; ORLANDO, R.C.; ARNOLD, R. The pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease - oesophageal manifestations. **Aliment Pharmacol Ther**. Dec;20 Suppl 9:14-25. 2004.

COCKS, T. M.; SOZZI, V.; MOFFAT, J. D.; SELEMIDIS, S. Protease-activated receptors mediate apamin-sensitive relaxation of mouse and guinea pig gastrointestinal smooth muscle. **Gastroenterology**.116: 586-592. 1999.

COHEN, H.; MORAES-FILHO, J.P.P.; CAFFERATA, M.L.; TOMASSO, G.; SALIS, G.; GONZALES, O. A Latin-American Consensus on gastroesophageal Disease Evidence-Based. **Eur J Gastroenterol Hepatol**. 18(4): 349-68. 2006.

CRIST, J. R., HE, X. D. & GOYAL, R. K. Chloride-mediated junction potential in circular muscle of the guinea pig ileum. **The American Journal of Physiology**. 261: G742-751. 1991.

DENT J, EI –SERAG HB WALLANDER M-A Johansson S Epidemiology of Gastroesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 54,710-717:2005

DIAMANT NE. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. *GI Motility Online* 2006may 16; Available from: URL www.nature.com/gimo/contents

DODDS, W.J.; DENT, J.; HOGAN, W.J. Mechanisms of gastroesophageal reflux in patients with reflux esophagitis. *N Engl J Med.*;307:1547-52.S. 1982.

ERGUN, Y.; OGULENER, N.; DIKMEN, A. Involvement of nitric oxide in non-adrenergic non cholinergic relaxation and action of vasoactive intestinal polypeptide in circular muscle strips of the rat gastric fundus. *Pharmacol Res.* 44:221-227, 2001.

FALCÃO, A.C.G.M.; CECCONELLO, I. Função motora do esôfago em pacientes com doença de refluxogastroesofágico. Dissertação de mestrado. Faculdade de medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

FARRUGIA, G.; IRONS, W. A.; RAE, J. L.; SARR, M. G.; SZURSZEWSKI, J. H. Activation of whole cell currents in isolated human jejunal circular smooth muscle by carbon monoxide. *The American Journal of Physiology.* 264: G1184-1189. 1993.

FRANZI, S.; MARTIN, C.; COX, M. Response of canine lower esophageal sphincter to gastric distention. *Am J Physiol.* 259:G380. 1990.

FURCHGOTT, R.F.; CHERRY, P.D.; ZAWADZKI, J.V. Endothelial cells as mediators of vasodilation of arteries. *J Cardiovasc Pharm.* 53: 557-573. 1984.

FURNESS, J.; COSTA, M. *Enteric Nervous System.* Churchill Livingstone. Edinburgh, London, Melbourne, New York, 290p. 1987.

GOCKEL, I.; BOHL, J. R.; ECKARDT, V. F.; JUNGINGER, T. Reduction of interstitial cells of Cajal (ICC) associated with neuronal nitric oxide synthase (n-NOS) in patients with achalasia. *The American Journal of Gastroenterology.* 103: 856-64. 2008.

GRAÇA, J.R.V.; NEVES, J.R.; MOTA, B.T.; LOPES, L.H.; GOIANA, S.W.; BEZERRA, M.N.; SANTOS, A.A.; SOUZA, M.A.N. Rectal distension increases transient lower esophageal sphincter relaxations in dogs: investigation of mechanisms of a putative rectoesophageal reflex. **Joint International Neurogastroenterology and Motility Meeting.** Oral Sessions. Boston, Massachusetts.2010.

GRIDER, J. R.; MURTHY, K. S.; JIN, J. G.; MAKHLOUF, G. M. Stimulation of nitric oxide from muscle cells by VIP: prejunctional enhancement of VIP release. **The American Journal of Physiology**. 262: G774-G778. 1992.

GURSKI, R.R.; ROSA, A.R.P.; VALLE, E.; BORBA, M.A.; VALIATI, A.A. Manifestações extra-esofágicas da doença do refluxo gastroesofágico. *J. bras. pneumol.* 32(2):150-160, mar.-abr. 2006.

HERBELLA, F.A.M., DEL GRANDE, J.C. Novas técnicas ambulatoriais para avaliação da motilidade esofágica e sua aplicação no estudo do megaesôfago. **Rev Col Bras Cir** 35: 199-202, 2007.

HIRANO, I. J.; PANDOLFINO. New technologies for the evaluation of esophageal motility disorders: impedance, high-resolution manometry, and intraluminal ultrasound. **Gastroenterol Clin North Am.** 36(3): 531-51, viii. 2007.

ILMARS LIDUMS,* ANDERS LEHMANN,‡ HELEN CHECKLIN, JOHN DENT,* and RICHARD H. HOLLOWAY*Control of Transient Lower Esophageal Sphincter Relaxations and Reflux by the GABAB Agonist Baclofen in Normal Subjects **Gastroenterology** 2000;118:7-13

IWAKIRI K, HAYASHI Y, KOTOYORI M, TANAKA Y KAWAKAMI A, SAKAMOTO C,HOLLWAY R. Transiente lower esophageal sphincter relaxations (TLESRs) are the major mechanism of gastroesophageal reflux but are not the cause of reflux disease. *Dig. Dis Sci* 50(6): 1072-1077 2005

KAHRILAS, P. J. Clinical practice: Gastroesophageal reflux disease. **N Engl J Med.**359(16): 1700-7. 2008.

KAHRILAS, P. J.; SHI, G. Increased frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation induced by gastric distention in reflux patients with hiatal hernia. **Gastroenterology.** 118(4): 688-95. 2000.

KATSCHINSKI, M.; SCHIRRA, J.; BEGLINER, C.; LANGBEIN, S.; WANK, U.; D'AMATO, M.; ARNOLD, R. Intestinal phase of human antro-pyloro-duodenal motility: cholinergic and CCK-mediated regulation. **Eur J Clin Invest** 26: 574-583, 1996.
LANG, I.M. Brain stem control of the phases of swallowing. **Dysphagia.** Sep;24(3):333-48. 2009.

LEHMANN A, ANTONSSON M, BREMNER-DANIELSEN M, FLÅRDH M, HANSSON-BRÅNDE N L, KÅRRBERG L. Activation of the GABAB receptor inhibits transient lower esophageal sphincter relaxations in dogs. **Gastroenterology** 1999;117:1147-1154.

LEFEBVRE, R. A. Influence of superoxide dismutase inhibition on the discrimination between NO and the nitregeric neurotransmitter in rat gastric fundus. **British Journal of Pharmacology**.188: 2171-2177. 1996.

LOWICKA, E.; BELTOWSKI, J. Hydrogen sulfide (H₂S) - the third gas of interest for pharmacologists. **Pharmacology Reporter**,. 59: 4-24. 2007.

YONG, L.E.I; HONGBING, Z.H.U; JINHONG, X.; CHEN, J. D. Z. Rectal Distension Modulates Canine Gastric Tone and Accommodation. **Digestive Diseases and Sciences**, Vol. 50, No. 11 (November), pp. 2134–2140. 2005.

YAFEN JIANG, VALMIK BHARGAVA AND RAVINDERK. MITTAL Mechanism of stretch-activated excitatory and inhibitory responses in the lower esophageal sphincter **Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol** 297: G397-G 405, 2009. First published 11 June2009; doi: 10.1152/ ajpgi.00108.2009.

MARTINS, S.R.; OLIVEIRA, R.B.; BALLEJO, G. Rat duodenum nitregeric-induced relaxations are cGMP-independent and apamin-sensitive. **European Journal of Pharmacology**. 284: 265-270. 1995.

MATSUDA, N. M.; LEMOS, M. C.; FEITOSA R. L. Effect of nitric oxide inactivators and guanylate cyclase on nitregeric nerve-induced relaxations of human and opossum lower esophageal sphincter (LES). **Fundamental & Clinical Pharmacology**,. 22: 299-304. 2009.

MATSUDA, N. M.; MILLER, S. M.; SHA, L.; FARRUGIA, G.; SZURSZEWski, J. H. Mediators of non-adrenergic non-cholinergic inhibitory neurotransmission in porcine jejunum. **Neurogastroenterology and Motility**.. 16: 605-612. 2004.

MEREARIN, F.; MOURELLE, M.; GUARNER, F.; SALAS, A.; RIVEROSMORENO, V.; MONCADA, S.; MALAGELADA J. R. Patients with achalasia lack nitric oxide synthase in the gastro-oesophageal junction. **European Journal of Clinical Investigation**. 23: 724-728. 1993.

MEDEIROS, J.V.R. Efeito gastroprotetor do sildenafil (Viagra®) na lesão gástrica induzida por álcool em ratos: papel do óxido nítrico, do GMPc, e dos canais de potássio sensíveis ao ATP.121f. Dissertação (Mestrado). Fortaleza: Universidade Federal do Ceará- Faculdade de Medicina.2006.

MINCIS, M. Gastroenterologia & hepatologia : diagnóstico e tratamento.. São Paulo, Lemos Editorial. 2002.

MITTAL, R.K; HOLLOWAY, R.H; PENAGINI, R.; BLACKSHAW, L.A.; DENT, J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. **Gastroenterology**. 109:601. 1995.

MORAES-FILHO, J.P.P.; CECCONELLO, I.; GAMA, R. J.; CASTRO, L.; HENRY, M.A.; MENEGHELLI, U.G. Brazilian Consensus on gastroesophageal reflux disease: proposals for assessment, classification, and management. **Am J Gastroenterol**. 97:241-8. 2002

MORAES-FILHO, J.P.P.; NASI, A.; CECCONELLO, I. Doença do refluxo gastroesofágico: revisão ampliada. **Arq. Gastroenterol**. vol.43 no.4 São Paulo Oct./Dec. 2005

MURRAY, J. A.; SHIBATA, E. F.; BURESH, T. L.; PICKEN, H.; O'MEARA, B. W.; CONKLIN, J. H. Nitric oxide modulates a calcium-activated potassium current in muscle cells from opossum esophagus. **The American Journal of Physiology**. 269: G606-612. 1995.

NEBEL, O. T.; FORNES, M. F. Symptomatic gastroesophageal reflux: incidence and precipitating factors. **Am J Dig Dis**. 21(11): 953-6. 1976.

NEUMANN, H.; MÖNKEMULLER, K.; KANDULSKI, A.; MALFERTHEINER, P. Dyspepsia and IBS Symptoms in Patients with NERD, ERD and Barrett's Esophagus. **Dig Dis**.;26:243-247. 2008

NEVES. J.R.C; MOTA, B.T.; LOPES, L.H.; GOIANA, S.W.; BEZERRA, M.M.; GRAÇA, J.R.V.; SANTOS, A.A.; SOUZA, M.A.N.; Effect of rectal distension on the frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation in sedated dogs. **Neurogastroenterology and motility**. 21, supplement 1, 1-98, pg 56. 2010

NETTER, F. ATLAS INTERATIVO DE ANATOMIA NETTER 3.0. Ícon Learning Systems. CD- ROM.2003.

OLIVEIRA SS, SANTOS IS SILVA JFP, MACHADO EC. Prevalência e fatores associados à doença do refluxo gastroesofagoco. **Arq. Gastroenterol** 42;116-121:2005

PEREIRA, K.B.; FURTADO, G.B. Doença do refluxo gastroesofágico. In: Lima, JMC. Gastroenterologia e Hepatologia: Sinais, Sintomas, Diagnóstico e Tratamento, Fortaleza, Edições UFC, Capítulo 2, 275-296p, 2010.

PENAGINI R, CARMAGNOLA S, CANTÙ P, Allocca M, Bianchi PA. Mechanoreceptors of the proximal stomach : role in triggering transient lower esophageal relaxation . *Gastroenterology* 126;49562004

PICHE, THIERRY, FRANK ZERBIB, STANISLAS BRULEY DES VARANNES, CHRISTINE CHERBUT, YOUNÈS ANINI, CLAUDE ROZE, ALAIN LE QUELLEC AND JEAN-PAUL GALMICHE. Modulation by colonic fermentation of LES function in humans

PREIKSAITIS HG, DIAMANT NE. Regional differences in cholinergic activity of muscle fibres from the human gastroesophageal junction. *Am J Physiol* 272(6 pt1); G1327:1997

RICHTER, J.E.; CASTELL, D. O. The esophagus. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2004.

ROPERT A, CHERBUT C, ROZE´ C, LEQUELLEC A, HOLST JJ, FU-CHENG X, BRULEY DES VARANNES S, AND GALMICHE JP. Colonic fermentation and proximal gastric tone in humans. *Gastroenterology* 111: 289–296, 1996.

SANDERS, K. M. Postjunctional electrical mechanisms of enteric neurotransmission. *Gut*. 47: 23-25. 2000.

SANTOS, A.A. Motilidade Gastrointestinal. In: *Fisiologia Básica*. Curi, R & Procópio JAF. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.609-624, 2009.

SANTOS, A.A.; GRAÇA, J.R.V. Bases celulares da fisiopatologia gastrointestinal. In: Lima, JMC. *Gastroenterologia e Hepatologia: Sinais, Sintomas, Diagnóstico e Tratamento*, Fortaleza, Edições UFC, Capítulo 2, 18-42p, 2010.

SCHANAIDER, A.; SILVA, P.C. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cir. Bras.*, Ago, vol.19, no.4, p.441-447. 2004.

SHELFFER RCH, GOOSZEN HG, HEBBARD GS, SAMSOM M. The role of transsphincteric pressure and gastric volume in acid reflux before and after fundoplication. *Gastroenterology* 129;1900-1909:2005

SIFRIM, D. Transient lower esophageal sphincter relaxations: how many or how harmful? *Am J Gastroenterol*. vol 96 no 9 2529-32. 2001.

SHAHIN, W.; MURRAY, J. A.; CLARK, E.; CONKLIN, J. L. Role of cGMP as a mediator of nerve-induced motor functions of the opossum esophagus. *The American Journal of Physiology*. 279: G567-G574. 2000.

SILVERTHORN, D. U. Fisiologia Humana - Uma Abordagem Integrada. Austin - EUA University of Texas. 2a edição. Ed. Manole. 819 p. il. 2003.

SOUZA, M.A.N.; FREIRE, C.C.F. Abordagem do Paciente com Disfagia. In: Lima, JMC. Gastroenterologia e Hepatologia: Sinais, Sintomas, Diagnóstico e Tratamento, Fortaleza, Edições UFC, Capítulo 2, 43-53p., 2010.

STEIN HJ, LIEBERMANN-MEFFERT D, DEMEESTER TR, SIEWERT JR. Three-dimensional pressure image and muscular structure of the lower sphincter. *Surgery* 117(6); 692-8: 1995

VANDERWINDEN, J. M.; MAILLEUX, P.; SCHIFFMANN, P. M.; VANDERHAEGHEN, J. J.; DELAET, M. H. Nitric oxide synthase/ NADPH diaphorase activity in infantile hypertrophic pylorus stenosis. **New England Journal of Medicine**, 327: 511-515. 1993.

VANNESTE, G.; DHAESE, I.; SIPS, P.; BUYS, E.; BROUCKAERT, P.; LEFEBVRE, R. A. Gastric motility in soluble guanylate cyclase alpha 1 knock-out mice. **Journal of Physiology**. 584: 907-920. 2007

VAEZI, M.F. Gastroesophageal Reflux Disease and the Larynx. **Jornal of Clinical Gastroenterology**. March, Vol 36(3) pp 198-203. 2003

WASHINGTON, N.; STEELE, R.J.; JACKSON, J. Patterns of food and acid reflux in patients with low-grade oesophagitis – the role of an anti-reflux agent. *Aliment Pharmacol Ther*. 12:53-8. 1998

WANG, X.; ZHONG, Y.X.; ZANHG, Z.Y.; LU, L.; LAN, M.; MIAO, J.Y. Effect of L-NAME on nitric oxide and gastrointestinal motility alterations in cirrhotic rats. **World J Gastroenterol**. Apr; 8(2):328-32. 2002

ZARATE, N.; KNOWLES, C.H.; YAZAKI, E.; LUNNIS P.J.; SCOTT S.M. Clinical Presentation and Patterns of Slow Transit Constipation Do Not Predict Coexistent Upper Gut Dysmotility. **Dig Dis Sci** .54:122–131. 2009

8- ANEXOS

Dados Individuais

Taxa de RTEEI

Distensão Gástrica

Cão	Basal (eventos/h)	Distensão Gástrica (eventos/h)
1	3,27	7,00
2	2,31	5,00
3	3,00	6,00
4	1,28	6,01
5	2,67	6,00

Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Distensão Retal (eventos/h)
1	3,26	5,21
2	2,32	7,50
3	3,10	2,66
4	1,3	5,12
5	2,6	5,20

Distensão Gástrica + Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Distensão Gástrica + Retal (eventos/h)
1	3,3	14,00
2	2,34	12,00
3	3,15	7,98
4	1,35	9,50

Tratamentos Farmacológicos

Atropina

Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Salina (eventos/h)	Atropina (eventos/h)
1	3,32	5,22	1,00
2	2,30	7,56	3,48
3	3,18	2,60	3,30
4	1,30	5,15	2,59

Hexametônio
Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Salina (eventos/h)	Hexametônio (eventos/h)
1	3,32	5,21	7,27
2	2,30	7,50	4,00
3	3,18	2,66	5,63
4	1,30	5,12	5,64

Baclofeno
Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Salina (eventos/h)	Baclofeno (eventos/h)
1	3,35	5,27	0,06
2	3,01	7,55	3,00
3	2,90	2,67	2,70
4	1,35	5,17	1,92

Tratamentos Cirúrgicos

Sham - Secção dos Nervos Pudendos
Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Sham Sec NN Pudendos(eventos/h)
1	3,32	5,21
2	2,30	7,50
3	3,18	2,66
4	1,30	5,12
5	3,25	5,20

Secção dos Nervos Pudendos
Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Secção dos Nervos Pudendos (eventos/h)
1	3,32	3,00
2	2,30	3,00
3	3,18	0,01
4	1,30	2,00

Tratamentos Cirúrgicos

Sham – Transecção Medular
Distensão Retal

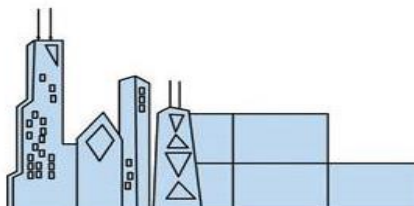
Cão	Basal (eventos/h)	Sham Transecção Medular(eventos/h)
1	3,32	5,21
2	2,30	7,50
3	3,18	2,66
4	1,30	5,12
5	3,25	5,20

Transecção Medular
Distensão Retal

Cão	Basal (eventos/h)	Transecção Medular (eventos/h)
1	3,33	2,40
2	2,35	3,06
3	3,12	2,58
4	1,35	2,68



Neurogastroenterology and Motility 2009



Joint International Meeting, Chicago August 27-30th

2009 NGM Joint Meeting Program August 27–30, 2009 Poster Session

181

Effect of rectal distension on the frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation in sedated dogs J.R.C. NEVES*1, B.T. MOTA1, L.H. LOPES1, S.W. GOIANA1, M.M. BEZERRA1, J.R.V. GRAC, A1, A.A. SANTOS2 and M.A.N. SOUZA2 1Laboratory of Physiology and Pharmacology, Faculty of Medicine of Sobral, UFC, Sobral, Ceara', Brazil, and 2Laboratory Luiz Capelo, Faculty of Medicine of Fortaleza, UFC; Fortaleza, Ceara', Brazil Transient lower esophageal sphincter (LES) relaxation (tLESR) is the major mechanism for gastroesophageal reflux. The present study aims to investigate the potential effect of the rectal distension on the tLESR in dogs. Fourteen healthy mongrel dogs were sedated with ketamine/xilazine (10/20mg Kg⁻¹-IM). An eightlumen continuously water-perfused manometric catheter (0.5 mL min⁻¹) was used to the measurements. Four spiral ports (4-cm-long) monitored LES pressure. The proximal stomach and esophageal body (3, 6 and 9 cm above LES) were also monitored. Following a basal period (30 min), tLESRs were evoked by quickly gastric distension with air (50 mL Kg⁻¹). After 30min, a fast rectal distension (5 mL Kg⁻¹) was performed by a latex balloon (OD 4.5 cm). The parameters were registered for 45min. Rectal distension increased tLESR frequency (0.18 ± 0.02 events/min) vs gastric distension period (0.1 ± 0.02 events/min - P < 0.05 Student 't' test). Although, atropine pre-treatment (0.15mg.Kg⁻¹) decreases LES pressure (15.0 ± 3.2 vs 22.5 ± 2.3 mmHg - P < 0.05 Student 't' test), the rectal distensioninduced tLESR was prevented by this treatment (0.05 ± 0.01 vs 0.06 ± 0.02 events/min). In conclusion, the rectal distension increases tLESR and this phenomenon was inhibited by atropine pre-treatment. A potential target for the treatment of gastroesophageal reflux disease. Support: FUNCAP, CCZ-PMS, SCMS and UFC

© 2009 THE AUTHORS
JOURNAL COMPILATION © 2009 BLACKWELL PUBLISHING LTD |
NEUROGASTROENTEROL MOTIL 20 0 9 , 2 1 , SUPPLEMENT 1, 1–9 8



2010 NGM Joint Meeting Program August 27–29, 2010 ORAL PRESENTATIONS

10

Rectal distension increases transient lower esophageal sphincter relaxations in dogs: investigation of mechanisms of a putative rectoesophageal reflex

J.R.V. GRAC¹, A1, J.R.C. NEVES¹, B.T. MOTA¹, L.H. LOPES¹, S.W. GOIANA*¹, M.M. BEZERRA¹, A.A. SANTOS² and M.A.N. SOUZA²

¹Laboratory of Physiology, Faculty of Medicine of Sobral, University Federal of Ceara´ ; Sobral; Ceara´Brazil, and ²Laboratory Luiz Capelo, Faculty of

Medicine of Fortaleza, University Federal of Ceara´ ; Fortaleza; Ceara´ ; Brazil

Transient lower esophageal sphincter (LES) relaxation (tLESR) is the major mechanism for gastroesophageal reflux. Presumed pathways and mechanisms related to tLESR as a result of RD were investigated in sedated dogs. Twenty-four healthy street mongrel dogs were sedated (ketamine/xilazine-10/20 mg kg⁻¹-IM). An eight-lumen continuously water-perfused manometric catheter (0.5 mL min⁻¹) was used to the measurements. Four spiral ports (4-cm-long) monitored LES pressure. The proximal stomach and esophageal body (3, 6 and 9 cm above LES) were also monitored. Following a basal period (45 min), tLESRs were evoked by quickly gastric distension with air (50 mL kg⁻¹) or a fast rectal balloon (OD 4.5 cm) distension (5 mL kg⁻¹). Parameters were subsequently registered for 45 min. Gastric and rectal distension increased tLESR frequency (0.08 ± 0.01; 0.09 ± 0.03 events/min, respectively - P < 0.05 Student 't' test) vs basal period (0.04 ± 0.01 events/min). Bilateral pudendal nerve section, spinal cord transection (L4-L5), baclofen (7 µmol kg⁻¹) and atropine (0.15 mg kg⁻¹) i.v. pre-treatments prevented the rectal distension-induced tLESR (0.03 ± 0.02; 0.04 ± 0.01; 0.01 ± 0.01; 0.05 ± 0.01 vs 0.04 ± 0.01 events/min, respectively). On the other hand, hexametonium (10 mg kg⁻¹) i.v. pre-treatment was unremarkable. In conclusion, the rectoesophageal reflex in dogs seems mediated through parasympathetic craniosacral division (via pudendal nerve) as an afferent pathway, central GABA-B mediation and vagal cholinergic efferent pathway, not including ganglionic involvement. A potential target to gastroesophageal reflux disease comprehension. Support: FUNCAP, CCZ-PMS, SCMS and UFC.

^a 2010 THE AUTHORS JOURNAL COMPILATION ^a 2010 BLACKWELL PUBLISHING LTD | NEUROGASTROENTEROL MOTIL 2010, 22, SUPPLEMENT 1, 1 – 22



Universidade Federal do Ceará
Comissão de Ética em Pesquisa Animal – CEPA
Rua: Coronel Nunes de Melo, 1127 Rodolfo Teófilo
Cep: 60430-970 Fortaleza-CE
Tel: (85) 288-8338 Fax (85) 288-8333

Parecer para CEPA

Relator: Profa. Leticia Veras Costa-Lotufo

Data: 01/11/2007

Título: Efeitos da distensão gástrica, duodenal e colônica sobre a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior de cães anestesiados (Protocolo no. 096/07)

Responsável: José Ricardo Cunha Neves

O presente projeto de pesquisa pretende avaliar os efeitos da distensão gástrica, duodenal e colônica sobre alguns parâmetros da função gastro-intestinal, especialmente a taxa de relaxamento transitório do esfíncter esofágico inferior em cães anestesiados.

Foi considerado APROVADO.

Fortaleza, 01 de novembro de 2007.

Profa. Dra. Leticia Veras Costa Lotufo