ROBERTA BALBINO HONÓRIO-GUIMARÃES

**Influência do óxido nítrico na cicatrização
da esofagite erosiva em fumantes**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração: Gastroenterologia Clínica

Orientador: Prof. Dr. Joaquim Prado Pinto de Moraes Filho

São Paulo

2007

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Honório-Guimarães, Roberta Balbino
Influência do óxido nítrico na cicatrização da esofagite erosiva em fumantes /
Roberta Balbino Honório-Guimarães. -- São Paulo, 2007.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Gastroenterologia.
Área de concentração: Gastroenterologia Clínica.
Orientador: Joaquim Prado Pinto de Moraes Filho.

Descritores: 1.Esofagite péptica/terapia 2.Esofagite péptica/fisiopatologia
3.Óxido nítrico/efeitos adversos 4.Tabagismo

USP/FM/SBD-295/07

DEDICATÓRIA

*“O Senhor é a minha luz e a minha Salvação; a quem temerei?
O Senhor é a força da minha vida; de quem me recearei?”
“Espera no Senhor, anima-te, e Ele fortalecerá o teu coração;
espera, pois, no Senhor.”*

Salmo 27, versículos 1 e 14.

Para **Haline**, meu halo de sol, minha filha,
por me fazer a cada dia querer ser uma pessoa melhor.

Para **Eurico Jr.**, meu marido,
para meus pais, **José e Irene**,
e para meu irmão, **Ricardo**,
por todo amor e carinho em todas as fases da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor FLAIR JOSÉ CARRILHO, titular da Disciplina de Gastroenterologia Clínica e chefe da pós-graduação, pelo apoio e incentivo constantes.

Ao Professor JOAQUIM PRADO PINTO DE MORAES FILHO, pelo estímulo contínuo, principalmente nas horas difíceis, pelo apoio irrestrito, pela dedicação, pela solicitude sempre presente durante este trabalho e todos os meus anos na Gastroenterologia Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Ao doutor TOMÁS NAVARRO-RODRIGUEZ, pelo apoio e solicitude contínuos, por ceder espaço físico para as colheitas dos materiais orgânicos, e em conjunto com doutor ARY NASI e doutoras CLÁUDIA CRISTINA DE SÁ, JEOVANA BRANDÃO e VANISE DALLA VECCHIA, por realizar os exames de pHmetria prolongada de 24 horas e de manometria esofágica.

Ao Professor FRANCISCO RAFAEL MARTINS LAURINDO, do Laboratório de Biologia Vascular do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por ceder o equipamento, e à bioquímica LAURA BRANDIZZI, pela realização das dosagens de nitrato e nitrito.

Ao Grupo de Estudos para Doenças do Esôfago, nas pessoas dos doutores DÉCIO CHINZON, CLÁUDIO LYIOTI HASHIMOTO, JAIME NATAN EISIG, RICARDO BARBUTTI, pela colaboração e apoio constantes.

À Professora ADRIANA BRUSCATO BORTOLUZZO, da Disciplina de Estatística do IBMEC, pela análise estatística.

À Disciplina de Gastroenterologia Clínica, seus professores, médicos, residentes, pós-graduandos, estagiários e auxiliares administrativos, pelo apoio e incentivo.

À Altana Pharma, por gentilmente ceder as amostras de Pantozol®, sem manter vínculo direto ou indireto com a pesquisa ou a pesquisadora.

A todos aqueles que, embora não citados, contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as normas abaixo indicadas, vigentes no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Cunha, A. C., Freddi, M. J. A., Crestana, M. F., Aragão, M. S., Cardoso, S. C., Vilhena, V. Segunda edição. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	viii
Resumo	x
<i>Summary</i>	xii
Introdução	1
1 Doença do refluxo gastroesofágico: fisiopatologia	2
2 Cigarro e doença do refluxo gastroesofágico	8
3 Tratamento clínico da DRGE	12
4 Tratamento clínico da DRGE em fumantes	12
Objetivos	16
Casuística e Métodos	18
Casuística.....	19
Métodos	22
Resultados.....	31
1. Análise dos dados epidemiológicos.....	33
2. Endoscopia digestiva alta	38
3. Manometria esofágica	40
4. pHmetria ambulatorial de 24 horas.....	43
5. Bicarbonato salivar (SHCO_3)	48
6. Nitrato salivar (SNO_3)	50
7. Nitrato gástrico (GNO_3).....	52
8. Nitrito salivar (SNO_2)	54
Discussão	56
Conclusões.....	66
Anexos	69
Referências.....	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Dados demográficos de GF	34
Tabela 2 -	Dados demográficos de GNF	35
Tabela 3 -	Dados demográficos de GC	36
Tabela 4 -	Dados demográficos de GNC.....	37
Tabela 5 -	Alterações esofágicas e presença de hérnia hiatal no pré-tratamento e no pós-tratamento (GF).....	38
Tabela 6 -	Alterações esofágicas e presença de hérnia hiatal no pré-tratamento e no pós-tratamento (GNF)	39
Tabela 7 -	Dados da manometria esofágica (GF).....	40
Tabela 8 -	Dados da manometria esofágica (GNF).....	41
Tabela 9 -	Dados da manometria esofágica em GC.....	42
Tabela 10 -	Dados da manometria esofágica em GNC	42
Tabela 11 -	pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GF	44
Tabela 12 -	pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GNF.....	45
Tabela 13 -	pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GC.....	46
Tabela 14 -	pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GNC	47
Tabela 15 -	Bicarbonato salivar (SHCO_3) em GF e GNF.....	48
Tabela 16 -	Bicarbonato salivar (SHCO_3) em GC e GNC.....	49
Tabela 17 -	NO_3 salivar em GF e GNF	50

Tabela 18 - NO ₃ salivar em GC e GNC	51
Tabela 19 - NO ₃ gástrico para GF e GNF	52
Tabela 20 - NO ₃ gástrico em GC e GNC	53
Tabela 21 - NO ₂ salivar em GF e GNF	54
Tabela 22 - NO ₂ salivar em GC e GNC	55

RESUMO

Honório-Guimarães RB. *Influência do óxido nítrico na cicatrização da esofagite erosiva em fumantes* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2007. 95 p.

INTRODUÇÃO: O cigarro é citado como um possível fator externo que influencia sobre a fisiopatologia e a evolução da doença do refluxo gastroesofágico (DRGE). O cigarro contém uma quantidade significativa de óxido nítrico (NO). Os objetivos deste trabalho foram avaliar, em pacientes fumantes com DRGE erosiva, o papel do NO, pela análise de seus precursores: nitratos salivar (SNO_3) e gástrico (GNO_3) e nitrito salivar (SNO_2), nos resultados de cicatrização após tratamento clínico, bem como comparar esta cicatrização com não-fumantes. **MATERIAIS E MÉTODOS:** 31 pacientes (grupo GF) adultos fumantes, com sintomas típicos de DRGE e endoscopia digestiva alta (EDA) mostrando esofagite A ou B de Los Angeles e 10 adultos não-fumantes, com mesmas características de DRGE em sintomas e EDA (grupo GNF) realizaram manometria esofágica, pHmetria de 24 horas, dosagens de bicarbonato salivar, dosagens de SNO_3 , GNO_3 e SNO_2 . Foram tratados com pantoprazol 40 mg/dia por oito semanas e repetiram a EDA. Comparou-se os grupos GF e GNF e também os grupos que cicatrizaram (grupo GC=18 pacientes) e não cicatrizaram (grupo GNC=23 pacientes). **RESULTADOS E DISCUSSÃO:** A cicatrização da esofagite erosiva ocorreu em dez pacientes (32,2%) em GF e oito pacientes (80%) em GNF ($p<0,05$). A manometria esofágica não mostrou diferenças estatísticas na avaliação do esfíncter inferior do esôfago (EIE) entre GF e GNF ($p=0,517$). A pHmetria de 24 horas mostrou maior intensidade de refluxo ácido em fumantes, com diferença estatisticamente significativa entre GF e GNF ($p<0,05$), com médias em GF: escore de DeMeester: 35,26, porcentagem de tempo com $\text{pH}<4$: 8,67 e tempo total com $\text{pH}<4$: 120,42 no GF, e médias no GNF: escore de DeMeester: 12,53, porcentagem de tempo com $\text{pH}<4$: 2,97 e tempo total com $\text{pH}<4$: 2,97. Bicarbonato salivar médio foi 4,54 $\mu\text{M/L}$ em GF e 2,90 $\mu\text{M/L}$ em GNF ($p<0,05$), portanto fumantes têm maior depuração esofágica. SNO_2 média foi maior em GF (69,60 μM) que GNF (38,60 μM) ($p<0,05$), que pode estar relacionada à aquisição de NO diretamente da fumaça do cigarro e sua provável oxidação a SNO_2 quando entra em contato com bicarbonato salivar (básico). SNO_3 média foi 226,88 μM em GF e 197,02 μM em GNF ($p=0,304$). GNO_3 média foi 134,56 μM em GF e 125,63 μM em GNF ($p=0,699$). Comparando-se GC e GNC houve diferença estatística ($p<0,05$) somente em SNO_3 (médias - GC: 172,36 μM e GNC: 256,57 μM). Este se mostrou relacionado à manutenção da erosão na mucosa esofágica, grupo (GNC) com 91,3% dos pacientes sendo fumantes. A manometria e a pHmetria tiveram, respectivamente, $p=0,935$ na avaliação do EIE e $p=0,235$ para escore de DeMeester, $p=0,194$ para porcentagem de tempo total com $\text{pH}<4$ e $p=0,214$ para tempo total com $\text{pH}<4$. GNO_3 teve média em GC de 112,09 μM e em GNC de 148,26 μM ($p=0,157$). SNO_2 foi

em média de 62,07 μM em GC e 61,67 μM em GNC ($p=0,977$). Bicarbonato salivar teve média de 3,88 $\mu\text{M/L}$ em GC e 4,36 $\mu\text{M/L}$ em GNC ($p=0,491$).
CONCLUSÕES: O cigarro pode ser considerado como uma co-morbidade capaz de piorar os resultados do tratamento clínico da esofagite erosiva, e o NO do cigarro está relacionado a esta piora.

Descritores: 1.Esofagite péptica/terapia 2.Esofagite péptica/fisiopatologia
3.Óxido nítrico/efeitos adversos 4.Tabagismo

SUMMARY

Honório-Guimarães, R.B. *Influence of nitric oxide on healing of erosive esophagitis in smokers* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2007. 95 p.

INTRODUCTION: Cigarettes are one of the possible external factors to influence the physiopathology and the evolution of the gastroesophageal reflux disease (GERD). Cigarettes contain a significant amount of nitric oxide (NO). The objectives of this work were, in smokers with erosive esophagitis, to evaluate the role of the nitric oxide (NO), carrying out an assessment of its precursors: salivary nitrate (SNO_3), gastric nitrate (GNO_3) and salivary nitrite (SNO_2), in the healing after clinical treatment, as well as to compare healing between smokers and non-smokers. MATERIALS AND METHODS: 31 adults smokers (group GS), who had typical GERD symptoms and an upper endoscopy which showed Los Angeles grade A or B esophagitis and ten non-smoker adults patients, with the same GERD symptoms and with similar esophagitis (group GNS), were submitted to esophageal manometry, 24-hour pHmetry, salivary bicarbonate count, and counts of SNO_3 , GNO_3 and SNO_2 . Then they were treated with pantoprazole 40 mg/day for eight weeks and repeated upper endoscopy. We compared the groups GS and GNS, and the group where healing was observed (group GH=18 patients) with the group with no healing (GNH=23 patients). RESULTS/ DISCUSSION: Erosive esophagitis healing occurred in ten patients (32.2%) of the GS and eight patients (80%) of the GNS ($p < 0.05$). Esophageal manometry didn't show significantly statistical differences in the evaluation of the lower esophageal sphincter (LES), between GS and GNS ($p=0.517$). 24-hour pHmetry showed a more intense reflux in smokers, with significantly statistical differences between GS and GNS ($p < 0.05$) in DeMeester score averages of: 35.26, percent of time with $\text{pH} < 4$: 8.67 and total time with $\text{pH} < 4$: 120.42 in GS, and DeMeester score averages of: 12.53, percent of time with $\text{pH} < 4$: 2.97 and total time with $\text{pH} < 4$: 2.97 in GNS. Mean salivary bicarbonate was $4.54 \mu\text{M/L}$ in GS and $2.90 \mu\text{M/L}$ in GNS ($p < 0.05$), so smokers have more esophageal clearance. Mean SNO_2 was higher ($69.60 \mu\text{M}$) in GS than in GNS ($38.60 \mu\text{M}$) ($p < 0.05$), that can be related to the acquisition of NO directly from the cigarette smoke and its probable oxidation to SNO_2 when it gets in touch with bicarbonate in the saliva (basic). Mean SNO_3 was $226.88 \mu\text{M}$ in GS and $197.02 \mu\text{M}$ in GNS ($p=0.304$). Mean GNO_3 was $134.56 \mu\text{M}$ in the GS and $125.63 \mu\text{M}$ in GNS ($p=0.699$). When comparing GH and GNH significantly statistical differences were found ($p < 0.05$) only in SNO_3 (mean - GH: $172.36 \mu\text{M}$ and GNH: $256.57 \mu\text{M}$). Higher doses of SNO_3 were related to the maintenance of the erosion in the esophageal mucosae, group (GNH) with 91.3% of patients being smokers. Manometry and pHmetry were, respectively, $p=0.935$ in evaluation of the lower esophageal sphincter (LES) and $p=0.235$ for DeMeester score, $p=0.194$ for percentage of total time with $\text{pH} < 4$ and $p=0.214$ for total time with $\text{pH} < 4$ between GH and GNH. Mean

GNO₃ in GH was of 112.09 µM and in GNH of 148.26 µM (p=0.157). Mean SNO₂ was on average 62.07 µM in the GH and 61.67 µM in the GNH (p=0.977). Mean salivary bicarbonate was 3.88 µM/L in GH and 4.36µM/L in GNH (p=0.491). CONCLUSIONS: Cigarette smoking can be considered as a co-morbidity factor capable of worsening results of erosive esophagitis results, and its NO is related to this worsening.

Descriptors: 1.Esophagitis, peptic/therapy 2.Esophagitis, peptic/physiopathology 3.Nitric oxide/adverse effects 4.Smoking

INTRODUÇÃO

A doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) é definida pelo Consenso Brasileiro e pelo Latino-Americano como “afecção crônica relacionada ao fluxo retrógrado de conteúdos gastroduodenais dentro do esôfago e/ou órgãos adjacentes, resultando em um variado espectro de sintomas, com ou sem lesão tecidual” ^(1,2). Sabe-se que fatores externos ao trato gastrointestinal, como alimentos e medicações, podem influir sobre a fisiopatologia e a evolução da DRGE ⁽³⁾. O cigarro tem sido estudado há décadas como um possível fator externo, com autores, como Karhila & Gupta ⁽⁴⁾, afirmando a presença de alterações na DRGE em consequência do uso do cigarro e autores, como Pehl *et al.* ⁽⁵⁾, enfatizando que o uso do cigarro não interfere na DRGE. Esses fatos levam à conclusão de que o vínculo entre o cigarro e a DRGE não está completamente esclarecido, apesar de pacientes relatarem que, quando cessam o uso do cigarro, melhoram os sintomas da DRGE ⁽⁶⁾.

1 DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO: FISIOPATOLOGIA

A DRGE é uma enfermidade de grande prevalência, devendo-se evidenciar que estudos epidemiológicos estimaram que a pirose, sua

principal manifestação, acomete diariamente cerca de 10% da população adulta norte-americana ⁽⁷⁾, uma vez por semana 12% da população brasileira ⁽⁸⁾ e habitualmente 18% da população inglesa ⁽⁹⁾.

Todos os seres humanos apresentam refluxo gastroesofágico fisiológico, o qual não causa sintomas, lesões ou complicações tardias. Ele ocorre devido à inexistência de uma válvula anatômica separando o esôfago do estômago. O refluxo de material gástrico para o esôfago, particularmente ácido clorídrico e pepsina, é causado pela diferença entre a pressão intra-abdominal, de cerca de 5 mmHg, e a pressão intratorácica e esofágica, de -5 mmHg ⁽¹⁰⁾.

O refluxo gastroesofágico (RGE) somente é passível de causar alterações patológicas quando os mecanismos de defesa esofágicos se encontram alterados. Tais mecanismos podem ser divididos entre anatômicos e funcionais. A transição esôfago-gástrica contém os elementos anatômicos: entrada oblíqua do esôfago no estômago, roseta da mucosa gástrica ao nível da cárdia, elementos de fixação do estômago representados pela artéria gástrica esquerda e ligamento frenoesofágico, pilar direito do diafragma ao nível do hiato e prega de Gubaroff ⁽¹¹⁾. Os elementos funcionais são: esfíncter esofágico inferior (EIE), ondas peristálticas esofágicas, saliva, resistência do epitélio esofágico ⁽¹²⁾.

Os defeitos fisiopatológicos da DRGE são constituídos por alterações motoras e neurofisiológicas, assim relacionadas: hipotensão persistente do EIE, insuficiência da depuração esofágica, defeitos na resistência epitelial

esofágica (extra-epitelial e intra-epitelial) e relaxamentos transitórios do EIE (RTEIE) ^(11,13).

A depuração esofágica é realizada pela peristalse primária esofágica associada à deglutição de saliva, que é rica em bicarbonato e, portanto, com relativa capacidade de neutralizar o ácido clorídrico ⁽¹²⁾. Portadores de DRGE podem, eventualmente, apresentar aumento da quantidade de saliva na tentativa do organismo de retornar à condição de homeostase esofágica ⁽¹¹⁾.

Evidências sugerem que o mecanismo fisiopatológico dominante pode variar com a gravidade da doença, com relaxamentos transitórios do esfíncter inferior esofágico dominando na doença leve (doença do refluxo gastroesofágico não erosiva e esofagite erosiva classes A e B da classificação endoscópica de Los Angeles) e mecanismos associados com hérnia hiatal e/ ou um EIE hipotenso dominando em formas mais graves da doença (esofagite erosiva classes C e D da classificação endoscópica de Los Angeles) ^(12,13,14,15,16).

Não obstante a possibilidade de diversos mecanismos fisiopatológicos estarem envolvidos na DRGE, vale a pena observar que, atualmente, são considerados como principal mecanismo fisiopatológico os relaxamentos transitórios do esfíncter inferior do esôfago (RTEIE) ⁽¹³⁾. Estes são conceituados como uma queda abrupta da pressão do EIE, em nível da pressão intragástrica, não precedida por contração faríngea, ou seja, não induzida por deglutição e sempre acompanhada de inibição seletiva e completa da musculatura estriada da crura diafragmática, persistindo por

períodos mais longos (maiores que dez segundos) que os relaxamentos causados por deglutição ^(3,10,16). Os RTEIE também ocorrem na quase totalidade dos episódios de RGE fisiológico. O que difere o RGE fisiológico do RGE patológico são a frequência e a duração maiores dos RTEIE neste último ⁽¹⁰⁾.

Estudos recentes indicam que os RTEIE, por sua vez, estão relacionados com a estimulação de diversos locais, incluindo a estimulação vestibular, a estimulação mecânica da faringe ⁽¹⁷⁾ e, principalmente, relacionados com a distensão do fundo gástrico, mediada por neurorreceptores que interagem com várias substâncias, como colecistocinina, VIP (polipeptídeo intestinal vasoativo), óxido nítrico e superóxidos ⁽¹⁷⁻²²⁾.

O óxido nítrico (NO) tem sido caracterizado como o principal neuromodulador no processo de formação dos RTEIE, apesar do mediador final nesse processo ainda não estar plenamente definido ⁽¹⁸⁻²⁸⁾. Sabe-se que o NO atua como modulador em várias funções do trato gastrointestinal, através da via não-adrenérgica/ não-colinérgica (NANC) ^(19,22,23,28-32). No esôfago, os neurônios NANC são responsáveis pela inibição inicial (hiperpolarização), associados com peristalse do corpo esofágico e com a subsequente excitação via cGMP-dependente (*cyclic glucose-monoamine-phosphatase-dependent*) do músculo liso circular esofágico ^(19,22,27,33,34). São também responsáveis pela inibição das contrações no EIE ^(19,22,31,33-35), havendo estudos demonstrando que o aumento do óxido nítrico no esôfago e estômago pode aumentar a frequência dos RTEIE ^(19,36,37). Estudos *in vivo*

mostraram que o NO é mediador dos relaxamentos do EIE induzido por deglutição, por distensão esofágica e por estimulação do nervo vago eferente ^(23,25,26). Tomita *et al.* ⁽³²⁾ observaram que neurônios colinérgicos foram mais predominantes que neurônios NANC em pacientes com EIE normal, enquanto o oposto ocorreu em pacientes com EIE com esofagite de refluxo. Esse decréscimo da reação de contração colinérgica com aumento da inibição NANC parece estar amplamente relacionado com a baixa pressão do EIE, eventualmente mais observada em EIE de portadores de esofagite de refluxo ⁽³²⁾. O NO e substâncias a ele relacionadas funcionam como neurotransmissores inibitórios principalmente no esôfago distal, e podem ter um papel definido na produção do tempo de latência dos RTEIES e no gradiente de latência aboralmente progressivo ⁽²²⁾.

O NO é formado endogenamente nas células mucosas do esôfago e estômago ^(22,31), mas também é adquirido exogenamente, sendo a alimentação a principal e mais conhecida forma de aquisição de nitratos ^(31,38-41), que são precursores do NO.

O NO endógeno é formado durante a degradação da L-arginina em L-citrulina, através da enzima óxido nítrico-sintetase (NOs) ^(28,42), a qual se apresenta como dois isômeros diferentes: constitutiva (cNOs) e indutiva (iNOs). A cNOs, citosólica e Ca²⁺/calmodulina-dependente, é ativada para a produção usual de NO, com processo de transcrição rápido e limitado. Tal processo conduz a uma baixa concentração de NO no tecido, chamada “fisiológica”, que atua modulando o tônus gastrointestinal microvascular e a integridade tecidual, estimulando a angiogênese ^(28,43,44). A iNOs, Ca²⁺-

independente, citosólica, é induzida após a ativação de macrófagos, células endoteliais e citocinas e, quando expressa, tem seu processo de transcrição ilimitado mas lento, formando grandes quantidades de NO ⁽²⁸⁾. Funciona, nesse caso, como molécula citotóxica para microorganismos invasores e células tumorais ⁽²⁸⁾. Chama a atenção o fato de que, como a produção da iNOs é ilimitada, a grande quantidade de NO acabe por causar lesões também nos tecidos onde foi gerada. No esôfago, diferentemente de outros órgãos, Tanaka *et al.* ⁽⁴⁵⁾ demonstraram que existe iNOs fraca e imunorreativa, normalmente expressa nas camadas basal e parabasal do epitélio escamoso esofágico sem, entretanto, ser detectada a formação de NO em pH esofágico fisiológico. A função da iNOs esofágica não é totalmente conhecida ⁽⁴⁵⁾. Estudos com NO e superóxidos mostraram que estes influenciam tanto a cicatrização como a manutenção da lesão em esofagite de baixo e de alto graus em coelhos ^(20,21).

O NO também é adquirido exogenamente por meio da alimentação, a principal e mais conhecida forma de aquisição de nitratos, precursores do NO ^(31,39-41,46-48). Nitratos provenientes de alimentação são degradados pelas bactérias anaeróbias presentes na cavidade bucal em nitritos, os quais são deglutidos. Estes passam através do estômago, são absorvidos pelo intestino delgado proximal e, pela circulação sistêmica, retornam à saliva, formando uma verdadeira circulação êntero-salivar ^(31,39-41,46-48). Durante sua passagem pelo estômago, em ambiente ácido, os nitritos são rapidamente reduzidos a NO ^(39-41,48). As concentrações de NO têm várias ordens de magnitude maiores que aquelas requeridas para causar vasodilatação ⁽⁴²⁾.

Assim, foi demonstrado que o NO tem efeito citotóxico contra *C.albicans* e várias bactérias Gram negativas ⁽⁴⁶⁾. Também se demonstrou que a quantidade de NO pode ser importante na liberação de gastrina ⁽³¹⁾. A circulação êntero-salivar proporcionaria ainda redução de nitritos a nitrosaminas, as quais em excesso, levariam teoricamente à maior formação de adenocarcinoma gástrico ⁽⁴⁰⁾.

2 CIGARRO E DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO

O estudo do cigarro como agente nosológico da DRGE teve grande avanço em 1971, quando Dennish & Castell ⁽⁴⁹⁾ mostraram que o tabaco leva à diminuição da pressão do EIE por até 20 minutos após o início do ato de fumar. Em 1972, Stanciu e Bennett ⁽⁵⁰⁾ observaram, durante o exame pHmétrico prolongado, que o número médio de manobras provocativas de refluxo aumentou de 6,9 para $10,8 \pm 3,3$ durante o ato de fumar ($p < 0,01$). Chattopadhyay *et al.* ⁽⁵¹⁾ demonstraram que fumantes, tanto assintomáticos quanto portadores de DRGE, apresentavam pressão do EIE inferior à dos não-fumantes.

É interessante observar que estudos epidemiológicos mais recentes, realizados por meio de questionários validados e auto-aplicáveis em grandes populações (de 1.533 a 56.596 pessoas ^(52,53)), tanto relacionam ^(52,54,55) como não relacionam ⁽⁵³⁾ o uso do tabaco com sintomas de refluxo gastroesofágico. Por outro lado, trabalho realizado em população de homens

japoneses relacionou a intensidade dos sintomas da DRGE à quantidade de maços de cigarro/ ano ⁽⁵⁴⁾.

Assim, se por um lado, estudos mais antigos ⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾ demonstraram alterações agudas e crônicas causadas no EIE pelo uso do tabaco, trabalhos mais recentes ^(4,5,56-58), empregando manometria e pHmetria de 24 horas, mostraram resultados divergentes, tanto relacionando o cigarro ao refluxo gastroesofágico quanto apontando a ausência de vínculo entre os dois fatores. De fato, o tema é ainda controverso. Karhilas & Gupta ⁽⁴⁾, avaliando nove fumantes assintomáticos e nove fumantes com sintomas de DRGE, comparando-os a oito voluntários não-fumantes, encontraram um EIE mais hipotônico nos dois grupos de fumantes em relação aos não-fumantes (9,6 e 5,5 mmHg nos fumantes e 14,5 mmHg no grupo de controle ($p < 0,05$ e $p < 0,01$, respectivamente). Também concluíram que o uso do cigarro aumenta, agudamente, a taxa de eventos de refluxos ácidos durante a pHmetria de 24 horas. Kadakia *et al.* ⁽⁵⁶⁾, estudando 14 fumantes, utilizaram a pHmetria prolongada para analisá-los usando cigarros por 24 horas e depois se abstendo do tabaco por outras 24 horas. Concluíram que há efetiva influência do cigarro na etiopatogenia da DRGE. Por outro lado, Pehl *et al.* e Schindlebecker *et al.* ^(5,57), empregando metodologia semelhante ao estudo de Kadakia *et al.*, chegaram à conclusão que o cigarro não influenciava o resultado da pHmetria de 24 horas, utilizando respectivamente, 78 e 15 fumantes. Waring *et al.* ⁽⁵⁸⁾, em estudo de pHmetria de 24 horas com oito fumantes, concluíram que o número de episódios de refluxo patológico diários diminui na ausência de cigarros, mas a exposição

ácida esofágica total não é significativamente afetada. É interessante observar que, diferentemente dos outros estudos realizados, Sontag *et al.*⁽⁵⁹⁾, em estudo com 184 pacientes (79 fumantes e 103 não-fumantes) para avaliar a influência na mucosa gástrica de hérnia hiatal, refluxo ácido, pressão do EIE, cigarro e álcool, concluíram que o tabagismo está significativamente associado ao aumento da pressão do EIE ($p < 0,03$). Os resultados foram numericamente mas não estatisticamente associados à diminuição da frequência de refluxos e do tempo de contato ácido. Obsevaram, ainda, que tais achados sugerem que o cigarro teria efeito direto sobre a mucosa esofágica. Estudos com adesivos extradérmicos de nicotina e phmetria de 24 horas^(60,61) permitiram concluir que não houve interferência dos adesivos de nicotina no número total de refluxos, refluxo ácido supino, refluxo pós-prandial, e que também não houve diferença estatisticamente significativa no refluxo ácido em decúbito.

Outros fatores fisiopatológicos da DRGE foram igualmente pesquisados em usuários de tabaco, tendo-se demonstrado que o cigarro reduz a depuração esofágica⁽⁶²⁾, diminui a saliva⁽⁶³⁾ e o tempo de esvaziamento gástrico⁽⁶⁴⁻⁶⁶⁾. A fisiopatologia deste último evento pôde ser explicada por um estudo em mucosa gástrica de ratos, no qual se mostrou que a nicotina induz ao relaxamento do músculo liso gástrico, fato que, segundo os autores, sugere que a reatividade diminuída do músculo liso gástrico pode ter papel na dismotilidade gástrica relacionada com a DRGE⁽⁶⁷⁾. Dua *et al.*⁽⁶⁸⁾ concluíram que o uso de cigarros com nicotina aumentou significativamente a frequência da deglutição espontânea, o que não ocorreu

durante o uso de cigarros sem nicotina (*unlit*). Sabe-se que usuários crônicos de cigarro, com ou sem estimulação por nicotina, têm aumentada a liberação de ácido gástrico e pepsina ^(64,69,70).

Teoricamente, o cigarro também atuaria no plano intracelular, tal como ocorre em outros órgãos do trato gastrointestinal, dificultando a cicatrização da mucosa em úlceras gástricas, doença de Chron e doença celíaca ^(44,71). Em relação ao esôfago, Jonhson *et al.* ⁽⁷²⁾ concluíram que o cigarro tem efeito adverso na integridade da mucosa. Orlando *et al.* ⁽⁷³⁾ demonstraram alterações provocadas pelo cigarro no transporte iônico de sódio na mucosa esofágica de coelhos.

É importante destacar que a fumaça do cigarro contém uma concentração elevada de NO ⁽⁷⁴⁾ e com isso, pode alterar o nível de NO dentro do organismo, aumentando-o ⁽⁷⁵⁾ ou diminuindo-o ⁽⁷⁶⁾, conforme o órgão estudado e o método utilizado.

Em mucosa gástrica de ratos, o cigarro diminui a formação do NO constitutivo ⁽³¹⁾. Desconhecemos estudos demonstrando se o tabaco influi sobre o nível de nitratos da saliva ou do suco gástrico, ou sobre o nível de nitrito salivar ou gástrico e, conseqüentemente, sobre o NO proveniente dessa fonte.

Vale mencionar que existem poucos trabalhos sobre NO exógeno ^(36-38,47) e, em especial, que a correlação entre o uso do cigarro e o NO em pacientes com DRGE não foi avaliada.

1.3 TRATAMENTO CLÍNICO DA DRGE

O tratamento clínico da DRGE está centrado na redução da acidez e do volume do suco gástrico, levando à diminuição da lesão epitelial e, conseqüentemente, ao alívio dos sintomas ⁽⁹⁾. Neste sentido, os inibidores de bomba de prótons (IBP) têm sido consagrados como os mais eficazes e capazes de levar a longos períodos de regeneração epitelial esofágica ^(1,2,10,12), mesmo após o término do uso do medicamento, particularmente nas esofagites erosivas de leve intensidade (classe A e B da classificação endoscópica de Los Angeles) ^(3,13,14,77).

1.4 TRATAMENTO CLÍNICO DA DRGE EM FUMANTES

Trabalhos realizados para a avaliação dos efeitos do uso crônico do cigarro no tratamento da DRGE têm apresentado resultados pouco conclusivos. Assim, Berenson *et al.* ⁽⁷⁸⁾ e Kuster *et al.* ⁽⁷⁹⁾, estudando antagonistas dos receptores H₂ da histamina, em 284 pacientes (37% fumantes) e 109 pacientes (25% fumantes), respectivamente, não relacionaram o cigarro como fator influente na história natural da DRGE ou na eficácia terapêutica. Contrastando, Koeltz *et al.* ⁽⁸⁰⁾, empregando o mesmo medicamento para o tratamento da DRGE em 108 pacientes (22 fumantes) consideraram o tabaco como capaz de atrasar o processo de cura da esofagite erosiva.

Os IBP apresentam, em geral, excelentes resultados de cicatrização da esofagite e, por isso, são escassas as pesquisas que se propuseram a demonstrar diferenças entre grupos de pacientes fumantes e não-fumantes. Para Hetzel *et al.* ⁽⁸¹⁾, empregando omeprazol 20 ou 40 mg/d para tratamento da esofagite erosiva em 196 pacientes, o hábito de fumar não influenciou a elevada taxa de cicatrização (81%). Gillessen *et al.* ⁽⁸²⁾ compararam esomeprazol e pantoprazol na eficácia de cicatrização de esofagite erosiva em 227 pacientes. Os não-fumantes compreendiam de 74 a 77% dos casos, mas não foram relatados resultados em separado entre fumantes e não-fumantes. Os resultados mostraram taxas de cicatrização para cerca de 91% a 97% dos pacientes. Kadakia *et al.* ⁽⁸³⁾ avaliaram a eficácia do alívio dos sintomas após quatro semanas de tratamento com rabeprazol 20 mg/d em 261 pacientes com refluxo gastroesofágico sem esofagite erosiva, com total melhora dos sintomas em 32% dos pacientes usando rabeprazol, contra 3,8% dos pacientes que usaram placebo. Este estudo dividiu os fumantes entre leves (de 7,8 a 10,6% dos pacientes), moderados (de 9,8 a 14,7% dos pacientes) e pesados (de 4,7 a 6,8 % dos pacientes), mas não foram relatadas diferenças entre fumantes e não-fumantes.

Deve-se destacar que, nos trabalhos disponíveis até o momento nos principais indexadores (PubMed, Medline, Lilacs, ScieLo), não têm sido descritas eventuais relações entre a quantidade de cigarros diários e o grau e/ou o padrão de refluxo gastroesofágico. No entanto, é importante salientar que o usuário crônico de cigarro preenche os critérios primários de vício (no

caso, em nicotina): uso compulsivo, efeitos psicoativos da droga e comportamento reforçado pelo seu uso ⁽⁸⁴⁾. Assim, conforme o número de cigarros fumados, os fumantes crônicos podem ser classificados em três categorias: leves (menos de dez cigarros/ dia), moderados (de dez a 19 cigarros/ dia) e intensos (igual ou superior a 20 cigarros/ dia) ⁽⁸⁵⁾. Em diversas enfermidades, como doença pulmonar obstrutiva crônica e neoplasias de pulmão, esôfago (carcinoma espino-celular) e faringe, está bem relacionado o surgimento da doença com o padrão de consumo crônico do cigarro ^(84,86,87).

Em conclusão, pode-se dizer que, para alguns pesquisadores ^(5,57,78,79), o tabagismo não desempenha papel importante na etiopatogenia e/ou fisiopatologia da DRGE, enquanto outros mostram que parece existir uma influência deletéria do cigarro, embora ela possa não estar relacionada com os aspectos mais estudados da fisiopatologia da DRGE ^(4,56,60,61).

Quanto à terapêutica clínica da DRGE em fumantes e não-fumantes, os índices de cura têm sido semelhantes ou eventualmente piores entre os fumantes ⁽⁷⁸⁻⁸²⁾. Convém assinalar, entretanto, que os autores não têm considerado as diferenças fisiopatológicas existentes entre esofagites leves e graves, que também poderiam influenciar os resultados dos tratamentos ^(3,13,14). Destarte, nem sempre a suspensão do fumo tem sido considerada no tratamento da DRGE ^(78,81,82). Essa é uma conduta contestável, já que

também se concluiu ^(71,73) que o cigarro dificulta a cicatrização da lesão da mucosa esofágica.

As observações acima permitem, pois, considerar ainda controversas as conclusões sobre os efeitos do uso crônico do cigarro sobre a DRGE.

OBJETIVOS

1. O objetivo primário do presente trabalho foi analisar, em pacientes com DRGE erosiva classe A ou B de Los Angeles, o possível papel do NO, avaliado por seus precursores, nitratos salivar e gástrico e nitrito salivar, nos resultados de cicatrização de fumantes e não-fumantes.

2. O objetivo secundário foi comparar, nos pacientes acima referidos, a cicatrização após tratamento clínico, entre fumantes e não-fumantes.

CASUÍSTICA E MÉTODO

CASUÍSTICA

O estudo teve a aprovação da Comissão Ético-científica do Departamento de Gastroenterologia da FMUSP, da Comissão de Análise em Pesquisa (CAPPesq) do Hospital da Clínicas da FMUSP, bem como da Comissão Nacional de Ética em Pesquisas (CONEP). Os pacientes eram provenientes do Ambulatório de Esôfago e Motilidade da Disciplina de Gastroenterologia Clínica do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP). Foram informados quanto à natureza do estudo e, uma vez cientes e de acordo, assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, também aprovado pelas Comissões de Ética.

Os pacientes respondiam inicialmente a questionário padronizado sobre idade, sexo, peso, uso de cigarro, sintomas típicos de DRGE, medicamentos e doenças concomitantes.

Entre setembro de 2003 e setembro de 2006, 68 pacientes foram selecionados para estudo prospectivo.

Foram incluídos no estudo dois grupos com características demográficas semelhantes e com sintomas típicos de DRGE (pirose e/ ou regurgitação ácida ^(1,2)): grupo de fumantes (GF), que variavam de

moderados a intensos (≥ 10 cigarros/ dia), e grupo de controles não-fumantes (GNF), ou seja, pacientes que nunca fumaram ou que pararam de fumar há mais de 10 anos. A continuidade do uso do cigarro em GF, até no mínimo dez cigarros/ dia, foi considerada critério de manutenção no protocolo.

Todos realizaram endoscopia digestiva alta (EDA), sendo incluídos somente portadores de esofagite erosiva classe A ou B da classificação de Los Angeles ⁽¹⁵⁾, sem hérnia hiatal ou com hérnia hiatal pequena (até 3 cm de extensão).

Foram excluídos do estudo:

- (a) pacientes alérgicos a inibidores de bombas de prótons;
- (b) obesos ($\text{IMC} \geq 30,1$) ou operados de obesidade mórbida;
- (c) pacientes com doenças incapacitantes ou que tinham expectativa de vida inferior a cinco anos;
- (d) pacientes submetidos a tratamento cirúrgico prévio de DRGE;
- (e) portadores de varizes de esôfago, de neoplasia de esôfago, de ulceração ativa ou estenose no esôfago e de esôfago de Barrett que apresentavam displasia de alto grau ou adenocarcinoma *in situ*;
- (f) usuários de antiinflamatórios não hormonais, alendronato, bloqueadores de canais de cálcio, antidepressivos tricíclicos e teofilina;
- (g) fumantes passivos, ou seja, pessoas com exposição freqüente à fumaça de tabaco no ambiente ⁽⁸⁹⁾;

(h) pacientes que se recusaram a participar ou mostraram dificuldade de entendimento dos procedimentos, a critério da pesquisadora.

Os pacientes que já se achavam em uso de inibidores de bomba de prótons (IBP) foram admitidos ao estudo, após passarem pela suspensão do IBP por um período de duas semanas, tendo antiácidos como medicação de resgate.

MÉTODOS

Na fase pré-tratamento, os pacientes dos grupos GF e GNF realizaram endoscopia digestiva alta (EDA), manometria esofágica, pHmetria prolongada de 24 horas, dosagens de nitrato salivar (SNO_3), de nitrato do suco gástrico (GNO_3) e de nitrito salivar (SNO_2). Nessa ocasião, também foram avaliados os sintomas típicos de DRGE quanto à intensidade e à duração ao longo da semana (anexo A).

O tratamento para DRGE foi realizado segundo o Consenso Brasileiro da Doença do Refluxo Gastroesofágico ⁽¹⁾, que recomenda o uso de inibidor de bomba de prótons em dose plena, uma vez ao dia, durante seis a oito semanas. Neste trabalho, usou-se pantoprazol (Pantozol®, Altana Pharma, São Paulo, Brasil) 40 mg/ dia, durante oito semanas. O uso da medicação foi controlado por meio da checagem das caixas vazias de medicamentos, a qual foi positiva para todos os pacientes.

Na fase pós-tratamento, até uma semana após o término da medicação, os pacientes tiveram reavaliação dos sintomas (anexo A) e realizaram novamente EDA.

1. Endoscopia digestiva alta

O exame foi realizado através de videoendoscopia (*Olympus GIF 100*). O preparo consistiu em jejum de dez horas, ingestão via oral de dimeticona 40 gotas, diluídas em cerca de 3 ml d'água, anestesia tópica da

orofaringe com lidocaína a 10% e sedação consciente com midazolan e/ou diazepam e/ou meperidina, em doses variáveis por peso corporal. Após o preparo foi realizada a entubação do esôfago através da orofaringe, sendo avaliados e descritos todos os achados em esôfago, estômago e duodeno, por técnica previamente descrita ⁽⁹⁰⁾.

Os seguintes aspectos eram observados ao exame endoscópico:

1. Esôfago: avaliaram-se a motilidade, a distensibilidade e o aspecto da mucosa com o intuito de se observar sinais de esofagite e a presença ou ausência de hérnia hiatal, além de excluir outras enfermidades eventualmente presentes, particularmente aquelas que integrassem os critérios de exclusão. O estadiamento da esofagite erosiva foi realizado pela classificação endoscópica de Los Angeles ⁽¹⁶⁾ (anexo B). Definiu-se hérnia hiatal por deslizamento como protusão do estômago de mais de 2 cm através do hiato esofágico.
2. Estômago: descreveram-se os aspectos gerais da anatomia, a distensibilidade e peristaltismo, o aspecto da mucosa e do piloro (anexo C).
3. Duodeno: descreveram-se a anatomia, distensibilidade, peristaltismo e aspecto da mucosa (anexo C)

Avaliamos os achados esofágicos na EDA, antes e após o tratamento: esofagite erosiva e hérnia hiatal. Consideramos cicatrizado o paciente cuja endoscopia pós-tratamento não mostrou mais esofagite erosiva.

2. Manometria esofágica

Após período de jejum de 12 horas, os pacientes eram submetidos à anestesia tópica com lidocaína gel a 2%, aspirada através de uma das narinas, nasofaringe e orofaringe. A seguir, por via nasal, era introduzido cateter octaluminal de polivinil (*Ardorfer*, modelo Z432, com diâmetro externo de 21 mm e quatro canais radiais), até o estômago. Antes de continuar o exame, fazia-se a retirada de líquido gástrico para dosagem de GNO_3 (vide abaixo).

Antes de cada estudo manométrico, o aparelho era devidamente calibrado com escala pressórica, utilizada em milímetros de mercúrio (mmHg).

O catéter era então ligado ao manômetro (*Polygraf Synethics* de seis canais), ficando continuamente infundido com água bidestilada por meio de bomba de infusão contínua (120 KPa) que, graças à infusão de gás nitrogênio (pressão do nitrogênio de 12.000 Kpa), manteve fluxo constante durante a infusão líquida. As sondas que compunham o cateter eram conectadas a transdutores de pressão (*PC Polygraf HR*), que por sua vez foram ligados a um computador com programa *Esophogram* (*Synetics Medical, Suécia*).

O registro das pressões era realizado simultaneamente por meio de quatro canais. Para a obtenção do registro pressórico do esôfago foi empregado o método estacionário de retirada intermitente do catéter, tracionando-se o mesmo no sentido cranial, centímetro a centímetro.

O estudo manométrico tinha por objetivo a avaliação de:

a) EIE - quanto ao tônus, relaxamento e distância da narina, tendo sido considerados valores normais de tônus: Pressão Respiratória Média (PRM) de 14 a 34 mmHg e Pressão Expiratória Máxima (PEM) de 10 a 35 mmHg⁽⁹¹⁾.

b) corpo esofágico - quanto à motilidade, amplitude, duração, velocidade e coordenação das ondas esofágicas. Consideramos valores normais em corpo distal (3 cm do EIE) amplitude de 57,4 a 115,2 mmHg, duração da onda de 1,59 a 4,31 segundos e velocidade da onda de 2,66 a 6,16 cm/s. Em corpo médio (8 cm do EIE), consideramos valores normais de amplitude 41,9 a 110,1 mmHg, duração de onda 2,16 a 3,86 segundos e velocidade da onda 3,42 a 6,66 cm/s. Em corpo proximal (13 cm do EIE), consideramos normais a amplitude de 33,7 a 72,7 mmHg e a duração da onda de 2,07 a 3,61 segundos. A velocidade não foi aferida em corpo proximal⁽⁹¹⁾;

c) EES (esfíncter esofágico superior) _ quanto ao tônus e ao relaxamento. Consideramos valores normais de tônus aqueles situados entre 29 a 102 mmHg⁽⁹¹⁾.

3. pHmetria ambulatorial de 24 horas

O exame era antecedido pela manometria esofágica, descrita acima.

Após a retirada do cateter da manometria e revisão da anestesia tópica, introduziu-se, através da mesma narina, uma sonda com eletrodo de antimônio (*Synetics Medical*, Suécia) de 2,1 mm de calibre, sendo fixada a 5 cm acima do limite superior do esfíncter inferior do esôfago, previamente

localizado por meio do método manométrico. A sonda era, então, fixada externamente. Um fio terra era fixado à pele através de um eletrodo externo.

A seguir a sonda era conectada ao aparelho de pHmetria (modelo *Digitrapper mark III Gold*, tipo holter, da *Synectics Medical*, Suécia), atado a uma alça para deixá-lo na altura da cintura.

Os pacientes eram então liberados para suas atividades, tendo antes recebido um diário para anotar os seguintes horários: início e término das refeições, de deitar, de sintomas e, no caso dos fumantes, de uso do cigarro.

Após 24 horas a sonda era retirada, e o aparelho conectado a um computador para transcodificação, leitura visual e interpretação do exame, com o auxílio do programa *Esophogram* (*Synectics Medical*, Suécia).

A análise do estudo pHmétrico permitia a obtenção das informações abaixo indicadas: (tabelas 11, 12, 13, 14 e anexo D).

- a) Número total de episódios de refluxo.
- b) Número de episódios de refluxo com duração superior a cinco minutos.
- c) Duração, em minutos, do episódio mais longo de refluxo.
- d) Tempo total, em minutos, de pH menor que quatro.
- e) Porcentagem do tempo em que o pH ficou menor que quatro.
- f) Porcentagem do tempo em que houve refluxo em relação ao tempo no qual o paciente esteve em posição ortostática. Neste trabalho, considerou-se como valor normal até 8,4% do tempo de monitorização, segundo critérios de Schindlbeck ⁽⁹²⁾ e Owen ⁽⁹³⁾.

- g) Porcentagem do tempo em que houve refluxo em relação ao tempo que o paciente esteve deitado. Neste trabalho, foi considerado como valor normal até 3,5% do tempo de monitorização ^(92,93).
- h) Porcentagem do tempo em que houve refluxo em relação ao tempo total de monitorização. Neste trabalho, considerou-se como valor normal até 3,4% do tempo de monitorização ^(92,93).
- i) Pontuação segundo padronização de Johnson e DeMeester (escore de DeMeester – EDM), calculada com base nos parâmetros acima e que considera refluxo patológico acima de 14,72 ⁽⁹⁴⁾.

4. Bicarbonato salivar (SHCO_3)

A coleta de saliva era realizada com o paciente em jejum de 12 horas, em um ambiente que não estimulasse as glândulas gustativas e após ficar sem mastigar, falar ou cuspir por 10 minutos. A saliva era coletada em frasco estéril e descartável, sem deglutições durante o processo ⁽⁷⁸⁾. Para a dosagem de bicarbonato salivar, eram coletados até 3 ml de saliva em seringa estéril de 5 ml e retiradas as bolhas de ar. O material então era transportado em gelo até o Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP, onde era dosado o bicarbonato no aparelho de gasometria, através de método potenciométrico.

5. Nitrato salivar (SNO_3), nitrato gástrico (GNO_3) e nitrito salivar (SNO_2)

Após jejum de 12 horas, com os fumantes mantendo o uso habitual do cigarro, realizou-se a coleta de material. Os pacientes foram instruídos a realizar a higiene bucal somente com produtos contendo triclosan, a fim de não alterar os resultados, visto que estudo realizado por Van Maanen *et al.* mostrou que produtos de higiene bucal utilizando gluconato de clorexidina reduziram a conversão do nitrato para nitrato salivar e soluções com triclosan não alteravam tal conversão ⁽⁹⁶⁾.

A coleta de saliva era realizada com o paciente em jejum de 12 horas, em um ambiente que não estimulasse as glândulas gustativas e após ficar sem mastigar, falar ou cuspir por 10 minutos. A saliva era coletada em frasco estéril e descartável, sem deglutições durante o processo ⁽⁷⁸⁾. Eram coletados 4 ml de saliva em dois tubos de Eppendorf para dosagens de SNO_3 e SNO_2 .

Antes de se iniciar o exame manométrico, coletavam-se 2 ml de suco gástrico através da sonda de manometria esofágica, os quais eram colocados em tubo de Eppendorf para dosagem de GNO_3 .

Imediatamente após a coleta, as secreções foram congeladas em nitrogênio líquido. No mesmo dia, o material era colocado em um freezer a -80°C negativos, sendo descongelado somente no dia da realização das dosagens.

A dosagem de nitrito e nitrato era realizada por meio de um detector de óxido nítrico de alta sensibilidade, NOA (*Nitric Oxide Analyzer*, modelo 280, marca Sievers®), cujo funcionamento baseia-se na reação de

quimioluminescência em fase gasosa entre o óxido nítrico e o ozônio. Inicialmente, foram realizadas curvas-padrão, partindo-se de uma solução "mãe", com concentração de 100 μM (micromolar). Para gerar a curva-padrão, foram feitas, em duplicata, diluições seriadas de NaNO_2 (nitrito de sódio) e NaNO_3 (nitrato de sódio) em água deionizada, variando as concentrações de 0,5 μM a 20,0 μM . Foram injetados 20 μl (microlitros) de concentrações crescentes de padrão já conhecido, em duplicata. Depois que as amostras padronizadas foram injetadas, obteve-se uma curva-padrão para nitrito e outra para nitrato.

A curva-padrão era feita em cada dia que as dosagens eram realizadas, sendo por isso, reunidas em séries de amostras para a sua determinação. As amostras foram descongeladas em temperatura ambiente e centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos, a 4° C. O volume de 20 μl do sobrenadante era, então, injetado no aparelho para obtenção dos picos de concentração. O cálculo das amostras foi realizado por meio de um *software* do equipamento que determina a área sob a curva e a transforma em concentração em μM . Os procedimentos laboratoriais foram realizados no Laboratório de Biologia Vascular do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

6. Análise estatística

As variáveis numéricas foram representadas por média, desvio padrão, mediana, valores mínimo e máximo. As variáveis categóricas foram representadas por frequência absoluta (n) e/ou porcentagem (%).

Realizaram-se comparações entre o grupo de fumantes (GF) e o grupo-controle (GNF) em relação a todas as variáveis. Para a comparação dos grupos quanto às variáveis categóricas, usou-se o teste qui-quadrado de Pearson. Para a comparação dos grupos quanto às variáveis numéricas, utilizou-se o teste t. Também foram comparados os pacientes que cicatrizaram as erosões (grupo cicatrização = GC) com os pacientes que as mantiveram (grupo não-cicatrização = GNC) e com as variáveis categóricas e numéricas, usando, respectivamente, o teste qui-quadrado de Pearson e o teste t.

RESULTADOS

Inicialmente, foram selecionados 49 fumantes com sintomas típicos de DRGE (pirose e/ou regurgitação ácida). A EDA mostrou que 44 tinham esofagite erosiva classe A ou B de Los Angeles. Dentre eles, 11 não quiseram prosseguir com os exames pré-tratamento, não conseguiram realizar a manometria e/ou pHmetria, ou não realizaram EDA pós-tratamento, sendo excluídos do protocolo. Também foram excluídos do protocolo dois pacientes que diminuíram para menos de 10 cigarros/dia. Concluíram o estudo 31 pacientes fumantes com RGE, sendo 14 mulheres e 17 homens, com IMC entre 20,17 e 29,97 e idades entre 26 e 60 anos.

Os pacientes do grupo de não-fumantes (GNF) foram selecionados entre 19 portadores de RGE, com sintomas típicos e esofagite erosiva classe A ou B de Los Angeles, pareados com os pacientes em sexo e IMC. Completaram o estudo dez pacientes com RGE e não-fumantes, sendo seis mulheres e quatro homens, com IMC entre 25,95 e 30,09 e idades entre 27 e 60 anos.

Os pacientes foram redistribuídos em dois novos grupos: pacientes que cicatrizaram a esofagite erosiva (GC), composto por 18 pessoas e pacientes que não cicatrizaram a esofagite erosiva (GNC), composto por 23 pessoas.

1. Análise dos dados epidemiológicos

A média das idades no grupo GF foi de 45,4 anos (26 a 60 anos) e no grupo GNF foi de 47,3 anos (27 a 60 anos). O IMC variou entre 20,17 a 29,97 m/kg² no grupo GF, com média de 25,99 m/kg². No GNF o IMC variou entre 23,16 e 30,10 m/kg², com média de 27,43 m/kg².

Os dados demográficos encontram-se nas tabelas 1 e 2.

Tabela 1 - Dados demográficos de GF

Paciente	Sexo	Idade	IMC m/kg ²
SA - F1	F	27	29,35
MTGM - F2	M	26	29,86
LVD - F3	F	36	22,15
GCS - F4	M	59	20,17
MABS - F5	M	53	22,83
CG - F6	F	60	25,46
JCF - F7	M	51	21,55
OZ - F8	M	50	24,68
VGR - F9	M	28	22,86
CVT - F10	F	60	24,22
RAP - F11	F	43	26,29
EGN - F12	F	29	27,00
MMS - F13	F	48	27,93
CDG - F14	F	60	25,46
RDP - F15	F	43	26,29
DC - F16	M	51	26,77
VR - F17	M	41	25,56
ENC - F18	F	58	25,39
JLS - F19	M	59	29,97
MFGA - F20	F	45	23,59
SLTS - F21	M	41	29,97
MJSJ - F22	F	47	25,11
JBSF - F23	M	31	27,12
AMS - F24	F	30	22,03
AHR - F25	M	43	29,61
RNR - F26	M	48	28,37
RJS - F27	M	38	28,22
VMS - F28	M	58	28,89
EO - F29	M	54	27,58
JVR - F30	M	53	29,76
MOPS - F31	F	38	21,48

Tabela 2 - Dados demográficos de GNF

Paciente	Sexo	Idade	IMC (kg/m ²)
MFLS - NF32	F	44	29,98
MAM - NF33	F	55	30,09
ESA - NF34	F	59	29,74
FAA - NF35	M	40	27,13
JLS - NF36	F	53	23,16
MRS - NF37	M	27	25,95
ACA -NF38	M	51	25,21
EASL - NF39	M	30	25,38
MAS - NF40	F	54	30,10
LMA - NF41	F	60	27,63

Houve cicatrização da esofagite erosiva (GC) em 18 pacientes, com idades entre 26 e 60 anos (média =44,45 anos) e IMC entre 20,17 e 29,98 m/kg² (média = 25,90 m/kg²). Mantiveram a erosão (GNC) 23 pacientes, com idades entre 27 e 60 anos (média = 46,12 anos) e IMC entre 21,55 e 30,10 m/kg² (média = 26,63 m/ kg²).

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos em relação à idade ($p=0,616$) e IMC ($p=0,416$).

Nas tabelas 3 e 4 encontram-se os dados demográficos dos pacientes dos GC e GNC, respectivamente.

Tabela 3 - Dados demográficos de GC

Paciente	Esofagite erosiva	Fumante	Idade	Sexo	IMC (m/kg²)
MTGM - C1	B	Sim	26	M	29,86
LVD - C2	A	Sim	36	F	22,15
GCS - C3	B	Sim	59	F	20,17
MABS - C4	B	Sim	53	M	22,83
DC - C5	B	Sim	51	M	26,77
JLS - C6	A	Sim	59	M	29,97
SLTS - C7	B	Sim	41	M	29,97
MJSJ - C8	A	Sim	47	F	25,11
JBSF - C9	A	Sim	31	M	27,12
MOPS -C10	A	Sim	38	F	21,48
MFLS - C11	A	Não	44	F	29,98
FAA - C12	B	Não	40	M	27,13
JLS - C13	B	Não	53	F	23,16
MRS - C14	B	Não	27	M	25,95
ACA - C15	A	Não	51	M	25,21
EASL -C16	A	Não	30	M	25,38
LMA - C17	A	Não	60	F	27,63
ESA - C18	A	Não	59	F	29,74

Tabela 4 - Dados demográficos de GNC

Paciente	Esofagite erosiva	Fumante	Idade	Sexo	IMC (m/kg²)
SA-NC 19	A	Sim	27	F	29,35
CG-NC 20	A	Sim	60	F	25,46
JCF-NC21	B	Sim	51	M	21,55
OZ-NC 22	B	Sim	50	M	24,68
VGR-NC 23	A	Sim	28	M	22,86
CVT-NC 24	A	Sim	60	F	24,22
RAP-NC 25	A	Sim	43	F	26,29
EGN-NC 26	A	Sim	29	F	27,00
MMS-NC 27	A	Sim	48	F	27,93
CDG-NC 28	A	Sim	60	F	25,46
RDP-NC 29	A	Sim	43	F	26,29
VR-NC 30	A	Sim	41	M	25,56
ENC-NC 31	A	Sim	58	F	25,39
MFGA-NC 32	A	Sim	45	F	23,59
AMS-NC 33	A	Sim	30	F	22,03
AHR-NC 34	B	Sim	43	M	29,61
RNR-NC 35	B	Sim	48	M	28,37
RJS-NC 36	A	Sim	38	M	28,22
VMS-NC 37	A	Sim	58	M	28,89
EO-NC 38	B	Sim	54	M	27,58
JVR-NC 39	A	Sim	53	M	29,76
MAM-NC 40	A	Não	55	F	30,09
MAS-NC 41	A	Não	54	F	30,10

2. Endoscopia digestiva alta

Os dados endoscópicos esofágicos dos GF e GNF no pré-tratamento e no pós-tratamento encontram-se, respectivamente, nas tabelas 5 e 6. Os dados da endoscopia inicial relativos ao estômago e ao duodeno encontram-se no anexo D.

Tabela 5 - Alterações esofágicas e presença de hérnia hiatal no pré - tratamento e no pós- tratamento (GF)

Paciente	Esôfago – pré-tratamento		Esôfago – pós-tratamento	
	EE Los Angeles*	Hérnia hiatal	EE Los Angeles*	Hérnia hiatal
F1	A	ausente	A	2 cm
F2	B	ausente	ausente	ausente
F3	A	3 cm	ausente	2 cm
F4	B	ausente	ausente	ausente
F5	A	ausente	ausente	ausente
F6	A	2 cm	A	3cm
F7	B	ausente	B	ausente
F8	B	ausente	B	ausente
F9	A	2cm	B	ausente
F10	A	ausente	A	ausente
F11	A	ausente	A	ausente
F12	A	ausente	A	ausente
F13	A	2 cm	B	3 cm
F14	A	3 cm	A	3 cm
F15	A	ausente	A	ausente
F16	B	ausente	ausente	ausente
F17	A	ausente	C	2 cm
F18	A	ausente	A	ausente
F19	A	ausente	ausente	ausente
F20	A	ausente	A	ausente
F21	B	ausente	ausente	2 cm
F22	A	ausente	ausente	ausente
F23	A	ausente	ausente	ausente
F24	A	ausente	A	ausente
F25	B	2 cm	A	ausente
F26	B	3 cm	C	ausente
F27	A	ausente	B	ausente
F28	A	3 cm	A	2 cm
F29	B	ausente	B	ausente
F30	A	ausente	A	ausente
F31	A	ausente	ausente	ausente

* EE Los Angeles = esofagite erosiva (classificação de Los Angeles)

Tabela 6 – Alterações esofágicas e presença de hérnia hiatal no pré - tratamento e no pós- tratamento (GNF)

Paciente	Esôfago – pré-tratamento		Esôfago – pós-tratamento	
	EE Los Angeles*	Hérnia hiatal	EE Los Angeles*	Hérnia hiatal
NF32	A	ausente	ausente	ausente
NF33	A	ausente	A	ausente
NF34	A	ausente	ausente	2 cm
NF35	B	ausente	ausente	ausente
NF36	B	2,5 cm	ausente	3 cm
NF37	B	ausente	ausente	ausente
NF38	A	ausente	ausente	ausente
NF39	A	ausente	ausente	ausente
NF40	A	ausente	B	ausente
NF41	A	2 cm	ausente	2cm

* EE Los Angeles = esofagite erosiva (classificação de Los Angeles)

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos GF e GNF em relação à cicatrização da esofagite erosiva, após o tratamento com pantoprazol 40mg/ dia durante oito semanas. No GF, a cicatrização ocorreu em dez pacientes (32,2%) e, no GNF, ocorreu em oito pacientes (80%) ($p=0,008$).

Não houve diferença estatisticamente significativa quanto à presença de hérnia de hiato por deslizamento nos dois grupos: GF com oito pacientes e GNF com três pacientes ($p=0,575$). Também não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao GC e GNC ($p=0,445$).

3. Manometria esofágica

Não houve diferenças estatísticas entre GF e GNF, considerando-se os três parâmetros: esfíncter inferior esofágico ($p=0,517$), ondas de corpo esofágico ($p=0,971$) e esfíncter esofágico superior ($p=0,633$). Os dados dos pacientes estão nas tabelas 7 (GF) e 8 (GNF).

Tabela 7 – Dados da manometria esofágica (GF)

Paciente	EIE	Corpo	EES
F1	Normal	DIME*	Normal
F2	Normal	DIME	Normal
F3	Normal	Normal	Normal
F4	Hipotônico	DIME	Normal
F5	Hipotônico	Normal	Normal
F6	Normal	DIME	Normal
F7	Normal	Normal	Hipertônico
F8	Hipotônico	Normal	Normal
F9	Hipotônico	DIME	Normal
F10	Normal	DIME	Hipertônico
F11	Normal	Normal	Hipertônico
F12	Hipotônico	DIME	Normal
F13	Normal	DIME	Normal
F14	Normal	DIME	Normal
F15	Normal	Normal	Normal
F16	Normal	Normal	Normal
F17	Hipotônico	Normal	Hipertônico
F18	Normal	DIME	Normal
F19	Hipotônico	Normal	Normal
F20	Normal	DIME	Normal
F21	Normal	Quebra-nozes	Normal
F22	Normal	DIME	Normal
F23	Normal	Normal	Hipertônico
F24	Normal	DIME	Normal
F25	Normal	Normal	Normal
F26	Normal	DIME	Normal
F27	Normal	DIME	Normal
F28	Normal	Normal	Normal
F29	Hipotônico	Normal	Normal
F30	Hipotônico	Normal	Normal
F31	Normal	Normal	Normal

*DIME= distúrbio inespecífico da motilidade esofágica.

Tabela 8 – Dados da manometria esofágica (GNF)

Paciente	EIE	Corpo	EES
NF32	Normal	Normal	Normal
NF33	Hipotônico	DIME	Normal
NF34	Hipotônico	DIME	Normal
NF35	Hipotônico	DIME	Hipertônico
NF36	Hipotônico	Normal	Normal
NF37	Normal	Normal	Normal
NF38	Normal	Normal	Normal
NF39	Normal	DIME	Normal
NF40	Normal	DIME	Normal
NF41	Normal	Normal	Normal

*DIME= distúrbio inespecífico da motilidade esofágica.

Avaliando-se GC e GNC, não houve diferença estatisticamente significativa em relação aos parâmetros do EIE ($p=0,935$), corpo ($p=0,797$) e EES ($p=0,522$). Os valores de cada paciente estão relacionados nas tabelas abaixo (tabela 9 – GC e tabela 10 – GNC).

Tabela 9 – Dados da manometria esofágica em GC

Pacientes	EIE	Corpo	EES
C1	Normal	DIME*	Normal
C2	Normal	Normal	Normal
C3	Hipotônico	DIME	Normal
C4	Hipotônico	Normal	Normal
C5	Normal	Normal	Normal
C6	Hipotônico	Normal	Normal
C7	Normal	Quebra-nozes	Normal
C8	Normal	DIME	Normal
C9	Normal	Normal	Hipertônico
C10	Normal	Normal	Normal
C11	Normal	Normal	Normal
C12	Hipotônico	DIME	Hipertônico
C13	Hipotônico	Normal	Normal
C14	Normal	Normal	Normal
C15	Normal	Normal	Normal
C16	Normal	DIME	Normal
C17	Normal	Normal	Normal
C18	Hipotônico	DIME	Normal

*DIME= distúrbio inespecífico da motilidade esofágica.

Tabela 10 – Dados da manometria esofágica em GNC

Pacientes	EIE	Corpo	EES
NC19	Normal	DIME	Normal
NC20	Normal	DIME	Normal
NC21	Normal	Normal	Hipertônico
NC22	Hipotônico	Normal	Normal
NC23	Hipotônico	DIME	Normal
NC24	Normal	DIME	Hipertônico
NC25	Normal	Normal	Hipertônico
NC26	Hipotônico	DIME	Normal
NC27	Normal	DIME	Normal
NC28	Normal	DIME	Normal
NC29	Normal	Normal	Normal
NC30	Hipotônico	Normal	Hipertônico
NC31	Normal	DIME	Normal
NC32	Normal	DIME	Normal
NC33	Normal	DIME	Normal
NC34	Normal	Normal	Normal
NC35	Normal	DIME	Normal
NC36	Normal	DIME	Normal
NC37	Normal	Normal	Normal
NC38	Hipotônico	Normal	Normal
NC39	Hipotônico	Normal	Normal
NC40	Hipotônico	DIME	Normal
NC41	Normal	DIME	Normal

*DIME= distúrbio inespecífico da motilidade esofágica.

4. pHmetria ambulatorial de 24 horas

Para os grupos GF e GNF, encontraram-se diferenças estatisticamente significativas nos seguintes parâmetros analisados:

- pontuação de DeMeester: média de 35,26 no GF e de 12,53 no GNF ($p=0,007$);
- percentagem do tempo total em que o pH ficou menor que quatro: média de 8,68 min no GF e de 2,97 min no GNF ($p=0,010$);
- tempo total em que o pH ficou menor que quatro: média de 120,42 min no GF e de 39,40 min no GNF ($p=0,010$).

Nas tabelas 11 e 12, estão, respectivamente, os valores dos pacientes dos grupos GF e GNF para os dados avaliados estatisticamente e no anexo C encontram-se os dados não avaliados estatisticamente.

Tabela 11 – pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GF

Paciente	TT pH<4 (min)*	%TT pH<4 (min)*	Escore de De Meester
F1	203	14,7	56,4
F2	9	0,6	6,4
F3	439	31	142,7
F4	55	3,9	12,5
F5	7	0,5	2,8
F6	27	1,9	8,0
F7	75	5,2	56,6
F8	423	29,4	87,1
F9	263	18,3	32,1
F10	45	3,2	178,5
F11	684	47,5	36,0
F12	334	25,2	101,7
F13	107	7,9	36,0
F14	42	2,9	15,0
F15	11	0,8	11,2
F16	4	0,3	1,7
F17	51	6,3	20,0
F18	17	1,2	5,2
F19	7	0,5	2,8
F20	8	0,5	3,1
F21	69	4,8	21,2
F22	289	20,1	79,0
F23	32	2,2	9,4
F24	7	0,5	2,4
F25	92	9,3	32,5
F26	64	4,5	22,8
F27	40	2,8	11,8
F28	154	10,4	42,8
F29	33	2,5	13,0
F30	134	9,4	41,2
F31	8	0,6	1,3

* TT pH<4 = tempo total com pH<4

% TTpH<4 = porcentagem de tempo total com pH<4

Tabela 12 - pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GNF

Paciente	TT pH<4 (min)*	%TT pH<4 (min)*	Escore de De Meester
NF32	35	2,7	12,3
NF 33	34	2,4	8,4
NF34	42	3,6	15,0
NF35	33	2,4	12,3
NF36	73	5,8	20,7
NF37	76	5,3	25,7
NF38	34	2,5	11,0
NF39	9	0,6	3,7
NF40	20	1,4	5,7
NF41	38	3,0	10,5

* TT pH<4 = tempo total com pH<4

% TTpH<4 = porcentagem de tempo total com pH<4

Na análise entre os grupos GC e GNC não se constatou diferença estatística significativa:

- pontuação de DeMeester: média de 21,72 no GC e de 35,97 no GNC ($p=0,235$);
- porcentagem de tempo total com pH menor que quatro: média de 5,022 minutos no GC e de 9,05 no GNC ($p=0,192$);
- tempo total com pH menor que quatro: média de 69,94 minutos no GC e de 124,69 no GNC ($p=0,214$).

Os dados de GC e GNC encontram-se nas tabelas 13 e 14, respectivamente.

Tabela 13 - pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GC

Pacientes	De Meester	%TT <4*	TT pH<4*
C1	6,4	0,6	9
C2	142,7	31,0	439
C3	12,5	3,9	55
C4	2,8	0,5	7
C5	1,7	0,3	4
C6	2,8	0,5	7
C7	21,2	4,8	69
C8	79,0	20,1	289
C9	9,4	2,2	32
C10	1,3	0,6	8
C11	12,3	2,7	35
C12	12,3	2,4	33
C13	20,7	5,8	73
C14	25,7	5,3	76
C15	11,0	2,5	34
C16	3,7	0,6	9
C17	10,5	3,0	38
C18	15,0	3,6	42

* % TTpH<4 = porcentagem de tempo total com pH<4

TT pH<4 = tempo total com pH<4

Tabela 14 - pHmetria ambulatorial de 24 horas: DeMeester, tempo total com pH menor que quatro e porcentagem de tempo total com pH menor que quatro em GNC

Pacientes	De Meester	%TT <4*	TT pH<4*
NC19	56,4	14,7	203
NC20	8,0	1,9	27
NC21	56,6	5,2	75
NC22	87,1	29,4	423
NC23	32,1	18,3	263
NC24	178,5	3,2	45
NC25	36,0	47,5	684
NC26	101,7	25,2	334
NC27	36,0	7,9	107
NC28	15,0	2,9	42
NC29	11,2	0,8	11
NC30	20,0	6,3	51
NC31	5,2	1,2	17
NC32	3,1	0,5	8
NC33	2,4	0,5	7
NC34	32,5	9,3	92
NC35	22,8	4,5	64
NC36	11,8	2,8	40
NC37	42,8	10,4	154
NC38	13,0	2,5	33
NC39	41,2	9,4	134
NC40	8,4	2,4	34
NC41	5,7	1,4	20

* % TTpH<4 = porcentagem de tempo total com pH<4

TT pH<4 = tempo total com pH<4

5. Bicarbonato salivar (SHCO_3)

O SHCO_3 teve média de 4,54 $\mu\text{M/L}$ no GF e de 2,90 $\mu\text{M/L}$ no GNF ($p=0,016$). Os valores de cada paciente estão relacionados na tabela abaixo (tabela 15).

Tabela 15 - Bicarbonato salivar (SHCO_3) em GF e GNF

Paciente	$\text{SHCO}_3(\mu\text{M/L})$	Paciente	$\text{SHCO}_3(\mu\text{M/L})$
F1	4,1	NF32	4,0
F2	3,6	NF33	1,2
F3	3,5	NF34	2,5
F4	6,6	NF35	2,0
F5	1,2	NF36	1,9
F6	4,5	NF37	4,9
F7	9,0	NF38	1,4
F8	2,1	NF39	5,8
F9	5,2	NF40	2,9
F10	6,6	NF41	2,4
F11	3,3		
F12	8,2		
F13	4,4		
F14	4,8		
F15	4,3		
F16	6,5		
F17	8,3		
F18	2,0		
F19	3,8		
F20	1,5		
F21	7,8		
F22	2,9		
F23	3,5		
F24	4,8		
F25	8,8		
F26	2,0		
F27	1,7		
F28	6,0		
F29	3,2		
F30	1,3		
F31	5,5		

No GC, a média de SHCO_3 foi de 3,88 $\mu\text{M/L}$ e no GNC, de 4,36 $\mu\text{M/L}$ ($p=0,491$). As dosagens dos pacientes estão na tabela 16.

Tabela 16 - Bicarbonato salivar (SHCO_3) em GC e GNC

Paciente	SHCO_3 ($\mu\text{M/L}$)	Paciente	SHCO_3 ($\mu\text{M/L}$)
C1	3,6	NC19	4,1
C2	3,5	NC20	4,5
C3	6,6	NC21	9,0
C4	1,2	NC22	2,1
C5	6,5	NC23	5,2
C6	3,8	NC24	6,6
C7	7,8	NC25	3,3
C8	2,9	NC26	8,2
C9	3,5	NC27	4,4
C10	5,5	NC28	4,8
C11	4,0	NC29	4,3
C12	2,0	NC30	8,3
C13	1,9	NC31	2,0
C14	4,9	NC32	1,5
C15	1,4	NC33	4,8
C16	5,8	NC34	8,8
C17	2,4	NC35	2,0
C18	2,5	NC36	1,7
		NC37	6,0
		NC38	3,2
		NC39	1,3
		NC40	1,2
		NC41	2,9

6. Nitrato salivar (SNO_3)

A média do SNO_3 foi de 226,88 μM no GF e de 197,02 μM no GNF.

Não houve diferença estatística significativa entre GF e GNF ($p=0,304$).

Os valores de cada paciente estão relacionados na tabela abaixo (tabela 17).

Tabela 17 - NO_3 salivar em GF e GNF

Paciente	SNO_3 (μM)	Paciente	SNO_3 (μM)
F1	368,56	NF32	73,80
F2	144,24	NF33	200,40
F3	257,30	NF34	156,73
F4	100,39	NF35	209,28
F5	143,30	NF36	223,24
F6	476,15	NF37	216,72
F7	258,80	NF38	224,76
F8	209,28	NF39	271,84
F9	424,10	NF40	254,89
F10	189,50	NF41	138,56
F11	290,68		
F12	218,54		
F13	139,80		
F14	488,74		
F15	133,28		
F16	89,72		
F17	186,68		
F18	140,20		
F19	125,42		
F20	304,26		
F21	298,32		
F22	208,00		
F23	95,52		
F24	105,46		
F25	473,15		
F26	132,26		
F27	271,84		
F28	178,32		
F29	111,92		
F30	344,24		
F31	125,42		

A média de SNO_3 em GC foi de 172,36 μM e em GNC foi de 256,57 μM . Observamos diferença estatística significativa entre GC e GNC ($p=0,008$). Os dados encontram-se na tabela 18.

Tabela 18 - NO_3 salivar em GC e GNC

Paciente	SNO_3 (μM)	Paciente	SNO_3 (μM)
C1	144,24	NC19	368,56
C2	257,30	NC20	476,15
C3	100,39	NC21	258,80
C4	143,30	NC22	209,28
C5	89,72	NC23	424,10
C6	125,42	NC24	189,50
C7	298,32	NC25	290,68
C8	208,00	NC26	218,54
C9	95,52	NC27	139,80
C10	125,42	NC28	488,74
C11	73,80	NC29	133,28
C12	209,28	NC30	186,68
C13	223,24	NC31	140,20
C14	216,72	NC32	304,26
C15	224,76	NC33	105,46
C16	271,84	NC34	473,15
C17	138,56	NC35	132,26
C18	156,73	NC36	271,84
		NC37	178,32
		NC38	111,92
		NC39	344,24
		NC40	200,40
		NC41	254,89

7. Nitrato gástrico (GNO_3)

A média de GNO_3 foi de 141,01 μM no GF e de 125,63 μM no GNF. Não houve diferença estatística significativa entre GF e GNF ($p=0,495$). Os valores de cada paciente estão relacionados na tabela abaixo (tabela 19).

Tabela 19 - NO_3 gástrico para GF e GNF

Paciente	GNO_3 (μM)	Paciente	GNO_3 (μM)
F1	272,27	NF32	65,76
F2	120,12	NF33	98,32
F3	203,44	NF34	93,76
F4	130,06	NF35	57,48
F5	146,2	NF36	157,64
F6	263,22	NF37	172,68
F7	198,7	NF38	196,32
F8	57,48	NF39	101,4
F9	359,36	NF40	144,64
F10	111,39	NF41	168,24
F11	101,26		
F12	46,92		
F13	75,72		
F14	296,06		
F15	64,74		
F16	50,48		
F17	118,6		
F18	103,78		
F19	49,06		
F20	289,72		
F21	180,72		
F22	94,98		
F23	80,16		
F24	55,2		
F25	307,32		
F26	72,3		
F27	101,4		
F28	173,96		
F29	124,8		
F30	72,76		
F31	49,06		

As médias das dosagens de GNO_3 foram de 112,09 μM no GC e de 148,26 μM no GNC. Não observamos diferença estatística entre GC e GNC ($p=0,157$). Os dados encontram-se na tabela 20.

Tabela 20 - NO_3 gástrico em GC e GNC

Paciente	$\text{GNO}_3(\mu\text{M})$	Paciente	$\text{GNO}_3(\mu\text{M})$
C1	120,12	NC19	272,27
C2	203,44	NC20	263,22
C3	130,06	NC21	198,70
C4	146,20	NC22	57,48
C5	50,48	NC23	359,36
C6	49,06	NC24	111,39
C7	180,72	NC25	101,26
C8	94,98	NC26	46,92
C9	80,16	NC27	75,72
C10	49,06	NC28	296,06
C11	65,76	NC29	64,74
C12	57,48	NC30	118,60
C13	157,64	NC31	103,78
C14	172,68	NC32	289,72
C15	196,32	NC33	55,2
C16	101,40	NC34	307,32
C17	168,24	NC35	72,3
C18	93,76	NC36	101,4
		NC37	173,96
		NC38	124,8
		NC39	72,76
		NC40	98,32
		NC41	144,64

8. Nitrito salivar (SNO₂)

A média de valores no GF foi de 69,33 µM e de 38,60 µM no GNF. Quando analisamos GF e GNF, encontramos diferença estatística significativa entre os dois grupos (p=0,005). Os dados encontram-se na tabela 21.

Tabela 21 - NO₂ salivar em GF e GNF

Paciente	SNO ₂ (µM)	Paciente	SNO ₂ (µM)
F1	30,34	NF32	28,96
F2	82,31	NF33	20,02
F3	130,45	NF34	33,25
F4	60,22	NF35	11,13
F5	56,33	NF36	59,35
F6	152,24	NF37	20,23
F7	29,34	NF38	45,87
F8	15,4	NF39	71,02
F9	53,7	NF40	62,17
F10	40,05	NF41	34,08
F11	50,51		
F12	126,21		
F13	81,83		
F14	134,11		
F15	29,63		
F16	57,86		
F17	48,34		
F18	80,43		
F19	42,95		
F20	65,23		
F21	143,24		
F22	187,32		
F23	29,8		
F24	41,3		
F25	123,17		
F26	49,78		
F27	51,02		
F28	46,6		
F29	5,95		
F30	60,72		
F31	42,95		

As médias de SNO_2 foram de 62,07 μM no GC e de 61,67 no GNC. Não observamos diferença estatística entre GCi e GNCi ($p=0,977$). Os valores de cada paciente estão relacionados na tabela abaixo (tabela 22).

Tabela 22 - NO_2 salivar em GC e GNC

Pacientes	SNO_2 (μM)	Pacientes	SNO_2 (μM)
C1	82,31	NC19	30,34
C2	130,45	NC20	152,24
C3	60,22	NC21	29,34
C4	56,33	NC22	15,40
C5	57,86	NC23	53,70
C6	42,95	NC24	40,05
C7	143,24	NC25	50,51
C8	187,32	NC26	126,21
C9	29,80	NC27	81,83
C10	42,95	NC28	134,11
C11	28,96	NC29	29,63
C12	11,13	NC30	48,34
C13	59,35	NC31	80,43
C14	20,23	NC32	65,23
C15	45,87	NC33	41,30
C16	71,02	NC34	123,17
C17	34,08	NC35	49,78
C18	33,25	NC36	51,02
		NC37	46,60
		NC38	5,95
		NC39	60,72
		NC40	20,02
		NC41	62,17

DISCUSSÃO

O cigarro é a droga inalatória mais utilizada no mundo. Embora amplamente divulgados e conhecidos os efeitos do fumo sobre a saúde humana, ainda assim o vício é socialmente tolerado, apesar da redução do número de fumantes no Brasil, nos últimos anos ⁽⁹⁷⁾.

O cigarro tem papel comprovado na etiopatogênese do câncer de diversos órgãos, como: pulmão, bexiga, orofaringe, laringe e carcinoma espino-celular esofágico ⁽⁸⁶⁾. O tabaco age sobre fatores de resposta inflamatória no plasma, tendo como conseqüências os aumentos de interleucina 6 (IL-6) ⁽⁹⁸⁾, proteína C reativa (PCR) ⁽⁹⁹⁾, homocisteína ⁽¹⁰⁰⁾ e CD44 ⁽¹⁰¹⁾.

No trato gastrointestinal, o tabaco dificulta a cicatrização de úlceras duodenais ⁽¹⁰²⁾ e gástricas ⁽⁷²⁾, altera a quantidade de secreção de ácido gástrico e pepsina ^(64,103), diminui a secreção de bicarbonato pancreático e, conseqüentemente, reduz o pH duodenal ⁽¹⁰⁴⁾. O tabaco também altera as citocinas em pacientes com doença inflamatória intestinal crônica, causando especificamente redução de interleucina 1 beta (IL-1 β) e de interleucina 8 (IL-8) no plasma e aumento de IL-8 na mucosa colônica ⁽¹⁰⁵⁾. O mais estudado dos componentes do cigarro, em relação ao trato gastrointestinal, é a nicotina ⁽⁸⁴⁾.

A nicotina é capaz de produzir alguns efeitos fisiológicos que potencialmente podem piorar a doença do refluxo gastroesofágico (DRGE): diminui a pressão do esfíncter inferior do esôfago (EIE), aumenta o número de episódios de refluxo, diminui a produção de muco protetor gástrico, aumenta a excreção de pepsinogênio e aumenta a secreção de ácido gástrico ⁽⁶⁵⁾.

Estudos epidemiológicos recentes em grandes populações de países europeus e do Japão ⁽⁵³⁻⁵⁶⁾ mostram que, entre os que se queixam rotineiramente de sintomas de DRGE, há cerca de 20% de fumantes. Não existem estudos a esse respeito em nosso meio, mas, em 2006, dados levantados pelo Instituto Nacional do Câncer, revelaram que os fumantes correspondem a 16% da população ⁽⁹⁷⁾. Nesse sentido, convém recordar que pelo menos 12% da população urbana brasileira é portadora de DRGE ⁽⁸⁾.

É interessante a observação de que, apesar de amplamente conhecidos os malefícios do fumo, em relação à DRGE, existem escassos estudos utilizando inibidores de bomba de prótons (IBP) sobre o papel do tabagismo na cicatrização da esofagite erosiva, embora se saiba que o grau de lesão causado pelo cigarro esteja linearmente relacionado, em outras patologias ^(85,86), com a quantidade de cigarros fumados.

As taxas de cicatrização da esofagite erosiva tratada com IBP referidas na literatura são consideráveis: Armstrong *et al.* ⁽¹⁰⁶⁾, estudando 125 pacientes com esofagite erosiva grau I a III de Savary-Miller (erosões, confluentes ou não, atingindo ou não toda a circunferência do esôfago), obtiveram, após 28 dias, cicatrização de 79% dos pacientes tratados com

pantoprazol. Sontag *et al.* ⁽¹⁰⁷⁾, usando lanzoprazol 30mg/ d para tratar 159 pacientes com esofagite erosiva e/ ou úlceras, demonstraram taxa de cicatrização cumulativa de 84% após oito semanas. Hetzel *et al.* ⁽⁸¹⁾, após tratamento durante quatro semanas de 61 pacientes com esofagite erosiva grau 2 (erosões superficiais envolvendo <10% da superfície mucosa dos últimos 5 cm da mucosa esofágica escamosa), encontraram taxas de cicatrização de 87% (utilizando omeprazol 20 mg/d) e 97% (utilizando omeprazol 40 mg/d). Gillessen *et al.* obtiveram, após dez semanas de tratamento, taxas de cicatrização de 91% e 97% em 113 pacientes utilizando pantoprazol 40 mg/d e em 114 pacientes utilizando esomeprazol 40 mg/ d, respectivamente ⁽⁸²⁾.

Vale referir que, em nosso estudo, encontramos uma taxa de cicatrização muito baixa (32,2%) na esofagite erosiva de baixo grau em fumantes (≥ 10 cigarros/ dia) após uso de pantoprazol 40 mg/dia por oito semanas. Como os grupos de pacientes fumantes (GF) e não-fumantes (GNF) foram pareados em relação aos dados epidemiológicos e achados endoscópicos, concluímos que o fumo atua como verdadeira co-morbidade, alterando significativamente a taxa de cicatrização da esofagite erosiva. Com o objetivo de melhor caracterizar, e eventualmente diferenciar os pacientes que cicatrizaram a esofagite (GC) daqueles que não cicatrizaram (GNC), também se compararam os resultados desses dois grupos. O GC foi formado por 18 (43,9%) pacientes cicatrizaram e o GNC, por 23 (56,1%) pacientes mantiveram a erosão após tratamento com IBP. É importante frisar que o GNC foi composto por 91,3% de fumantes.

Consideremos, inicialmente, os resultados do exame manométrico do esôfago. Não encontramos diferença estatística ($p < 0,05$) na avaliação do EIE, corpo esofágico ou do esfíncter superior esofágico, quando comparados os resultados do exame manométrico, entre GF e GNF, contrariamente aos estudos de Dennish & Castell ⁽⁵⁰⁾, Chattopadhyay, Greaney & Irvin ⁽⁵²⁾ e Kahrilas & Gupta ⁽⁴⁾, que encontraram EIE mais hipotônicos em fumantes, ou ao estudo de Sontag *et al.* que concluíram que fumantes tinham EIE mais hipertônicos ⁽⁶⁰⁾. Vale lembrar que esses trabalhos tiveram os mesmos objetivos, mas utilizaram critérios metodológicos diferentes, tendo sido realizados estudos com fumantes em diversas atividades: fumando, logo após fumar e após períodos de até 12 horas de abstinência. O estudo de Dennish & Castell ⁽⁵⁰⁾ também demonstrou que a queda na pressão do EIE manteve-se por até 20 minutos após o ato de fumar, depois voltando ao estado basal. Na presente casuística, a avaliação manométrica entre GC e GNC, independentemente da utilização crônica do tabaco, não demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Portanto, concluímos que tanto fumantes como não-fumantes podem apresentar alterações manométricas na esofagite classe A ou B de Los Angeles, mas em ambos os grupos estas alterações devem ser consideradas como fator de pouca influência na cicatrização da esofagite erosiva e, conseqüentemente, alterações manométricas secundárias ao uso do cigarro não podem ser consideradas responsáveis pela pior taxa de cicatrização no GF.

A pHmetria ambulatorial de 24 horas mostrou que o RGE é mais intenso em fumantes, tanto pela avaliação dos critérios de DeMeester ⁽⁹⁴⁾ quanto pelo tempo total com pH < 4 e porcentagem de tempo total com pH < 4. Kadakia *et al.*, avaliando 14 fumantes com pirose e esofagite erosiva, encontraram porcentagem de tempo total com pH < 4 durante 24 horas sem fumar de 7,35% e 11,1% durante 24 horas fumando 20 cigarros ($p < 0,007$) e aumento dos episódios de pirose, que foram seguidos imediatamente por um episódio de refluxo, com queda de pH de 3,5 para 7,5 durante abstinência de cigarro e uso do mesmo, respectivamente ($p < 0,009$) ⁽⁵⁷⁾. Tais achados podem ser explicados por meio do trabalho clássico de Dennish e Castell ⁽⁵⁰⁾, que observaram, no estudo manométrico, a queda da pressão do EIE por até 20 minutos após o ato de fumar, facilitando, destarte, episódios de refluxo mais intensos. Entretanto, apenas a maior intensidade do refluxo não pode justificar a baixa taxa de cicatrização dos fumantes. A pHmetria de 24 horas tem por objetivos determinar a presença e a intensidade do refluxo ácido ⁽¹⁰⁷⁾ e avaliar se os sintomas estão relacionados ou não com a ocorrência do refluxo gastroesofágico ⁽¹⁰⁸⁾. Sabe-se que a associação entre sintomas de refluxo e a exposição esofágica é pobre, bem como a associação entre a exposição esofágica ao ácido e a intensidade da exposição esofágica e a severidade da esofagite ⁽¹⁰⁸⁾. A pHmetria de 24 horas pode também avaliar a eficiência de tratamento clínico ⁽¹⁰⁷⁾, mas para esse objetivo deve ser realizada durante a vigência de medicação. Portanto, neste trabalho, a análise da pHmetria prolongada de 24 horas entre GC e

GNC ficou prejudicada pela não-realização da pHmetria durante o tratamento com IBP.

A deglutição salivar leva à depuração esofágica pela presença de bicarbonato de sódio, que atua como neutralizador do HCl ^(3,10). No presente trabalho, o GF produziu quantidade maior de bicarbonato salivar (média 4,55 $\mu\text{M/L}$) do que o GNF (média 2,90 $\mu\text{M/L}$), ($p<0,05$), provavelmente devido à maior intensidade de RGE observado nos fumantes. É possível que o organismo tente compensar a exposição esofágica ao ácido gástrico produzindo mais saliva e secretando mais bicarbonato na luz esofágica ^(11, 108). Entretanto, esse aumento da depuração esofágica com diferença estatística significativa entre GF e GNF ($p<0,05$) não impediu pior taxa de cicatrização no GF, como vemos ao analisar estatisticamente GC (média de 3,88 $\mu\text{M/L}$) e GNC (média de 4,36 $\mu\text{M/L}$) com $p=0,491$, sugerindo incapacidade desse mecanismo para efetivamente compensar alguma lesão deletéria causada pelo cigarro.

É relevante a observação de que, no presente trabalho, nenhum dos parâmetros usualmente estudados para caracterizar a DRGE (pHmetria ambulatorial de 24 horas, manometria esofágica, bicarbonato salivar) tenha demonstrado ser responsável pela baixa cicatrização no GF.

Norman e Keith ⁽⁷⁵⁾ demonstraram que existe elevada quantidade de óxido nítrico (NO) presente nos cigarros, entre 24,0 a 54,0 $\mu\text{g/ puff}$ em cigarros *king-size* com e sem filtro, respectivamente. Tomando este dado em consideração, avaliamos os derivados do NO mais importantes no trato gastrointestinal (e, em especial, nos órgãos relacionados com DRGE),

respectivamente: nitrato salivar (SNO_3), nitrato gástrico (GNO_3) e nitrito salivar (SNO_2). O nitrito gástrico não pôde ser avaliado, pois não pode ser congelado por muito tempo, mesmo com conservantes, e as amostras, colhidas em ambulatório, não podiam ser imediatamente aferidas naquele local⁽³⁹⁻⁴²⁾.

Tanto o SNO_3 como o GNO_3 mostraram-se equivalentes nos grupos GF e GNF. Contudo, ao avaliarmos o GC e o GNC, observamos que os pacientes que cicatrizaram tinham valores de GNO_3 e SNO_3 menores que os pacientes que mantiveram a erosão, com diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) para SNO_3 . Os estudos de Soteris *et al.*⁽²¹⁾ e Lanas *et al.*⁽²²⁾, usando modelos experimentais (coelhos) com esofagite péptica produzida pela perfusão esofágica contínua de pepsina acidificada através de um cateter de polivinil, com posterior administração *in vivo* de inibidores e doadores de NO (nitroprussiato de sódio, NG-nitro-L-arginina) e superóxido dismutase (varredor de radicais livres), concluíram que doadores de NO ajudaram na cicatrização da esofagite de baixo grau (caracterizada por perda epitelial superficial pequena, mudanças epiteliais reativas e inflamação mínima ou ausente), mas não atuaram sobre a lesão na esofagite erosiva de alto grau. Os autores sugerem que, no modelo experimental de esofagite de alto grau, (caracterizada pela presença de erosões e/ou ulcerações macroscópicas e inflamação e/ou hemorragia microscópica), o mecanismo de defesa da mucosa realizado pelo NO é pobre e facilmente rompido, quando o insulto é significativo. Consideram também que o NO pode, após essa agressão inicial, levar a aumento da lesão na mucosa. Podemos

conjeturar que no GNC, formado principalmente por 91,3% de fumantes, os altos valores de NO_3 estão relacionados com a manutenção da lesão na mucosa esofágica.

Encontrou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) na dosagem de SNO_2 entre GF e GNF. Tal diferença não pode ser explicada pela aquisição de NO_3 dos alimentos com conseqüente formação de NO_2 por bactérias anaeróbias habitantes da boca ⁽⁴¹⁾. Também não pode ser explicada por conservantes de alimentos ^(95,96), devido ao jejum de 12 horas a que ambos os grupos estiveram submetidos. Tannebaunn *et al.* ⁽⁴¹⁾ sugeriram que ocorre redução de NO_2 em NO no suco gástrico, imediatamente após o contato do NO_2 com pH ácido. Pode-se, portanto, levantar a hipótese de que ocorre a reação inversa em pH básico, ou seja, a oxidação de NO em NO_2 . É possível que a forma de aquisição de SNO_2 tenha ocorrido pela oxidação do NO aspirado pelo fumante, ao entrar em contato com o bicarbonato da saliva (que é produzida em maior quantidade em portadores de refluxo) ⁽⁶³⁾. A partir deste ponto, o SNO_2 entra na circulação êntero-salivar, sendo deglutido, passando pelo estômago, absorvido pelo intestino delgado proximal e, pela circulação sistêmica, retorna à saliva ^(31,39-41,46-48). Podemos, portanto, sugerir que o NO_2 gástrico também deve ser maior no GF, pois ele está relacionado com a quantidade de SNO_2 . A circulação êntero-salivar proporcionaria ainda redução de nitritos a nitrosaminas ⁽⁴⁰⁾, que funcionam como radicais livres. Como conseqüência a esse aumento de SNO_2 , haverá maior formação de NO e radicais livres

nos fumantes, apresentados por Lanas *et al.* ⁽³¹⁾ como mantenedores da erosão e/ ou ulceração esofágica.

As dosagens de SNO₂ no GC e GNC mostraram valores médios similares (62,07 e 61,67 µM), (p=0,977), contribuindo para corroborar a hipótese de aquisição do SNO₂ através do NO do cigarro. O SNO₂ não pode ser responsabilizado pela piora da cicatrização, já que não houve diferença estatisticamente significativa entre GC e GNC (p<0,05). Propomos que altas dosagens de nitrito salivar nos fumantes (p<0,05) estejam relacionadas com a aquisição de NO diretamente da fumaça do cigarro e sua oxidação no pH básico salivar a nitrito. Conseqüentemente, seria o próprio NO da fumaça do cigarro, e não a nicotina, o fator mais deletério para o paciente com DRGE e esofagite erosiva.

Em resumo, tem-se que neste trabalho os fumantes, com maior intensidade de refluxos (p<0,05) e maior concentração de NO₂ salivar (p<0,05), apresentaram taxas de cicatrização piores que os não-fumantes (p<0,05). Os fumantes apresentaram maior quantidade de bicarbonato salivar (p<0,05), relacionada com aumento da depuração esofágica. Os pacientes que não cicatrizaram com tratamento clínico (91,3% eram fumantes) mostraram dosagens de NO₃ salivar maiores (p<0,05). Estudos subseqüentes são necessários para confirmar tais hipóteses.

CONCLUSÕES

Neste trabalho, demonstrou-se que a frequência de cicatrização em fumantes com esofagite erosiva foi significativamente inferior à do grupo-controle de pacientes não-fumantes, respectivamente, 32,2% e 80%, respectivamente ($p < 0,05$).

A manometria esofágica mostrou que alterações do esfíncter inferior do esôfago não são estatisticamente diferentes entre fumantes e não-fumantes, e, portanto, alterações manométricas em consequência do cigarro não podem ser consideradas responsáveis pela pior taxa de cicatrização neste grupo.

A pHmetria ambulatorial de 24 horas mostrou diferença estatisticamente significativa entre fumantes e não-fumantes, estando mais alterada no primeiro grupo, o que demonstra tendência a episódios de refluxo gastroesofágico mais intensos nos fumantes.

Dosagens elevadas de nitrato em saliva ($p < 0,05$) mostraram-se relacionadas com a manutenção da erosão na mucosa esofágica. Maiores dosagens de nitrito em saliva de fumantes ($p < 0,05$) podem estar relacionadas com a possível oxidação do óxido nítrico do cigarro em nitrito na saliva.

O cigarro pode ser considerado como uma co-morbidade capaz de alterar o curso do tratamento da esofagite erosiva por inibidores de bomba de prótons, e o óxido nítrico do cigarro está relacionado a esta piora.

ANEXOS

Anexo A – Sintomas típicos da DRGE.

Os pacientes eram interrogados quanto à presença ou ausência de pirose e regurgitação ácida, além da intensidade e da frequência desses sintomas. Após o tratamento, eram novamente interrogados quanto aos sintomas acima (Anexo A). Foi realizada análise da melhora dos sintomas, não havendo diferença estatística entre GF e GNF ($p=0,684$).

Paciente	Pré-tratamento						Pós-tratamento					
	Pirose			Regurgitação ácida			Pirose			Regurgitação ácida		
	P	I	x/s	P	I	x/s	P	I	x/s	P	I	x/s
F1	Sim	07	01	Sim	10	03	Não	00	00	Sim	10	02
F2	Não	00	00	Sim	08	07	Não	00	00	Não	00	00
F3	Sim	10	07	Sim	10	02	Não	00	00	Não	00	00
F4	Sim	10	07	Sim	10	07	Sim	05	07	Não	00	00
F5	Sim	07	02	Sim	05	01	Não	00	00	Não	00	00
F6	Sim	10	07	Sim	10	07	Sim	10	04	Sim	04	01
F7	Sim	10	07	Sim	05	02	Não	00	00	Sim	01	07
F8	Sim	10	03	Sim	05	03	Sim	10	02	Sim	05	03
F9	Sim	10	01	Sim	10	01	Não	00	00	Não	00	00
F10	Não	00	00	Sim	07	05	Não	00	00	Sim	05	01
F11	Sim	06	01	Não	00	00	Não	00	00	Não	00	00
F12	Não	00	00	Sim	10	07	Não	00	00	Não	00	00
F13	Sim	10	04	Sim	10	07	Sim	07	04	Sim	04	07
F14	Sim	10	04	Sim	04	01	Sim	10	02	Não	00	00
F15	Sim	06	01	Sim	03	01	Não	00	00	Não	00	00
F16	Sim	04	01	Não	00	00	Sim	04	01	Não	00	00
F17	Sim	07	07	Não	00	00	Sim	03	07	Sim	05	07
F18	Sim	08	03	Não	00	00	Não	00	00	Não	00	00
F19	Sim	03	01	Sim	05	07	Não	00	00	Sim	07	07
F20	Sim	08	01	Sim	08	07	Não	00	00	Não	00	00
F21	Sim	08	07	Não	00	00	Sim	08	02	Não	00	00
F22	Sim	06	02	Sim	03	03	Não	00	00	Não	00	00
F23	Sim	10	03	Não	00	00	Não	00	00	Não	00	00
F24	Sim	05	01	Sim	10	07	Não	00	00	Não	00	00
F25	Sim	05	07	Sim	05	01	Sim	05	04	Não	00	00
F26	Sim	10	07	Sim	05	02	Sim	10	07	Sim	10	07
F27	Sim	08	03	Não	00	00	Sim	05	03	Não	00	00
F28	Sim	09	01	Sim	10	01	Não	00	00	Sim	04	01
F29	Sim	10	07	Sim	05	01	Sim	08	07	Não	00	00
F30	Sim	10	07	Sim	07	07	Sim	07	07	Sim	03	04
F31	Sim	04	02	Sim	04	02	Sim	08	07	Não	00	00
Nf32	Sim	10	05	Sim	05	02	Sim	02	07	Não	00	00
Nf33	Sim	10	07	Sim	10	07	Sim	05	03	Não	00	00
Nf34	Sim	03	07	Não	00	00	Sim	03	07	Sim	05	02
Nf35	Não	00	00	Sim	06	02	Não	00	00	Não	00	00
Nf36	Sim	08	07	Sim	08	07	Sim	03	01	Sim	08	05
Nf37	Sim	06	03	Sim	08	01	Não	00	00	Não	00	00
Nf38	Sim	05	03	Sim	03	03	Não	00	00	Não	00	00
Nf39	Sim	04	01	Sim	03	03	Sim	03	01	Não	01	01
Nf40	Sim	05	07	Sim	05	07	Não	00	00	Sim	05	03
Nf41	Sim	10	04	Não	00	00	Sim	02	01	Não	00	00

Anexo B - Esofagite erosiva - Classificação endoscópica de Los Angeles.

Grau	Descrição
A	Uma ou mais soluções de continuidade da mucosa, cada uma com menos de 5 mm, confinadas às pregas.
B	Pelo menos uma solução de continuidade da mucosa com mais de 5 mm de comprimento, sem confluir nas extremidades superiores de duas pregas adjacentes.
C	Uma ou mais soluções de continuidade que confluem na extremidade superior de duas ou mais pregas adjacentes, ocupando menos de 75% da circunferência do esôfago.
D	Soluções de continuidade que ocupam, no mínimo, 75% da circunferência do esôfago.

Anexo C - Achados endoscópicos em estômago e duodeno (EDA inicial).

SA:

- i. estômago: normal,
- ii. duodeno: normal.

MTGM:

- iii. estômago: gastrite erosiva leve de antro,
- iv. duodeno: normal.

LVD:

- v. estômago: normal,
- vi. duodeno: normal.

GCS:

- vii. estômago: gastrite erosiva moderada de antro,
- viii. duodeno: bulboduodenite erosiva leve.

MABS:

- ix. estômago: normal,
- x. duodeno: úlcera bulbar cicatrizada em parede anterior.

CG:

- xi. estômago: normal,
- xii. duodeno: normal.

JCF:

- xiii. estômago: pangastrite enantematosa moderada,
- xiv. duodeno: normal.

OZ:

- xv. estômago: gastrite erosiva leve de antro,
- xvi. duodeno: bulboduodenite enantematosa leve.

VGR:

- xvii. estômago: normal,
- xviii. duodeno: normal.

CVT:

- xix. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- xx. duodeno: normal.

RAP:

- xxi. estômago: normal,
- xxii. duodeno: normal.

EGN:

- xxiii. estômago: normal,
- xxiv. duodeno: normal.

MMS:

- xxv. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- xxvi. duodeno: normal.

CDG:

- xxvii. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- xxviii. duodeno: bulboduodenite enantematosa leve.

RDP:

- xxix. estômago: normal,
- xxx. duodeno: bulboduodenite enantematosa leve.

DC:

- xxxi. estômago: gastrite erosiva leve de antro,
- xxxii. duodeno: úlcera em cicatrização final justapilórica superior bulbar.

VR:

- xxxiii. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- xxxiv. duodeno: normal.

ENC:

- xxxv. estômago: normal,
- xxxvi. duodeno: bulboduodenite enantematosa moderada.

JLS.1:

- xxxvii. estômago: pangastrite enantematosa leve,
- xxxviii. duodeno: retração cicatricial em parede superior bulbar.

MFGA:

- xxxix. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- xl. duodeno: normal.

SLTS:

- xli. estômago: normal,
- xlii. duodeno: normal.

MJSJ:

- xlili. estômago: normal,
- xliv. duodeno: normal.

JBSF:

- xliv. estômago: gastrite erosiva moderada de antro,
- xlvi. duodeno: bulboduodenite enantematosa leve.

AMS:

- xlvii. estômago: normal,
- xlvi. duodeno: normal.

AHR:

- xliv. estômago: pangastrite enantematosa leve; gastrite erosiva elevada moderada de antro,
- l. duodeno: bulboduodenite enantematosa moderada.

RNR:

- li. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- lii. duodeno: bulboduodenite enantematosa leve.

RJS:

- liii. estômago: normal,
- liv. duodeno: normal.

VMS

Estômago: gastrite erosiva moderada de antro,
Duodeno: úlcera bulbar cicatrizada posterior.

EO:

- lv. estômago: gastrite erosiva leve de antro,
- lvi. duodeno: normal.

JVR:

- lvii. estômago: normal,
- lviii. duodeno: normal.

MOPS:

- lix. estômago: gastrite erosiva leve de antro,
- lx. duodeno: úlcera bulbar cicatrizada anterior justapilórica.

MFLS:

- lxi. estômago: pólipó sésil 5mm de diâmetro em pequena curvatura de corpo médio,
- lxii. duodeno: normal.

MAM:

- lxiii. estômago: gastrite erosiva moderada de antro,
- lxiv. duodeno: pseudodivertículo bulbar ântero-superior.

ESA:

- lxv. estômago: gastrite erosiva severa de antro,
- lxvi. duodeno: normal.

FAA:

- lxvii. estômago: normal,
- lxviii. duodeno: normal.

JLS.2:

- lxix. estômago: normal,
- lxx. duodeno: normal.

MRS:

- lxxi. estômago: normal,
- lxxii. duodeno: normal.

ACA:

- lxxiii. estômago: gastrite enantematosa leve de antro,
- lxxiv. duodeno: bulboduodenite enantematosa leve.

EASL:

- lxxv. estômago: normal,
- lxxvi. duodeno: úlcera bulbar cicatrizada anterior.

MAS:

- lxxvii. estômago: gastrite enantematosa leve,
- lxxviii. duodeno: normal.

LMA:

- lxxix. estômago: normal,
- lxxx. duodeno: normal.

Anexo D - phmetria ambulatorial de 24 horas – dados não analisados estatisticamente.

Pacientes	Númer o total de refluxo em 24 horas	Duração do mais longo episódio de refluxo (min)	Nº de episódios de refluxos mais longos que cinco minutos	%Tempo total em que houve refluxo	%Tempo em que houve refluxo ortostático	%Tempo em que houve refluxo supino
F1	256	21	08	14,7	19,4	6,5
F2	62	01	00	0,6	1,3	0,1
F3	92	318	05	31,0	14,0	61,5
F4	75	04	00	3,9	5,9	0,3
F5	18	01	00	0,5	0,6	0,4
F6	23	12	01	1,9	2,7	0,9
F7	199	20	01	5,2	9,5	0,0
F8	198	97	11	29,4	39,3	11,3
F9	276	40	11	18,3	17,2	20,8
F10	57	27	01	3,2	2,8	3,4
F11	333	177	13	47,5	32,3	69,9
F12	437	40	22	25,2	30,6	17,7
F13	178	10	01	7,9	6,9	10,1
F14	19	25	02	2,9	0,9	5,8
F15	45	11	01	2,6	3,0	2,0
F16	06	03	00	0,3	0,5	0,0
F17	32	31	04	6,3	1,0	10,7
F18	34	03	00	1,2	2,1	0,5
F19	18	04	00	0,5	0,4	0,6
F20	25	02	00	0,5	0,7	0,0
F21	102	14	02	4,8	5,7	3,5
F22	161	64	10	20,1	16,2	27,8
F23	58	14	01	2,2	3,3	0,0
F24	08	02	00	0,5	0,8	0,0
F25	268	35	15	18,5	20,8	17,6
F26	153	04	00	4,5	5,0	4,3
F27	40	06	02	2,8	4,1	0,7
F28	154	18	04	10,4	10,5	10,2
F29	47	16	01	2,5	1,4	3,5
F30	230	134	10	9,4	12,3	4,8
F31	08	04	00	0,6	1,2	0,0
NF32	37	04	00	2,2	3,5	0,2
NF33	22	04	00	1,9	2,7	0,9
NF34	20	18	02	2,9	0,8	6,0
NF35	95	04	00	2,4	4,9	0,0
NF36	87	24	03	4,8	3,5	5,7
NF37	119	13	04	5,3	3,0	7,5
NF38	274	28	17	19,4	21,0	15,7
NF39	27	17	01	2,5	2,8	2,3
NF40	20	23	01	3,4	3,5	8,4
NF41	32	10	01	3,0	4,9	0,0

REFERÊNCIAS

1. Moraes-Filho JPP, Cecoconello I, Gama-Rodrigues J, Castro LP, Henry MA, Meneghelli UG, Quigley E, and the Brazilian Consensus Group. Brazilian Consensus on Gastroesophageal Reflux Disease: Proposals for assessment, classification, and management. *Am J Gastroenterology*. 2002;97(2):241-8.
2. Cohen H, Moraes-Filho JPP, Cafferata ML, Tomasso G, Salis G, González O. et al. A Latin-American Consensus on Gastroesophageal Disease Evidence-Based. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2006;18(4): 349-68.
3. Karilas PJ, Pandolfino JE. Gastroesophageal reflux disease and its complications, including Barrett's metaplasia. In: Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease: Pathophysiology/ Diagnosis/ Management*. 7th Ed. Philadelphia: Saunders; 2002. Vol 1. p.599-622.
4. Kahrilas PJ, Gupta RR. Mechanisms of acid reflux associated with cigarette smoking. *Gut*. 1990;31:4-10.
5. Pehl C, Pfeiffer A, Wendl B, Nagy I, Kaess H. Effect of smoking on the results of esophageal pH measurement in clinical routine. *J Clin Gastroenterol*. 1997;25(3):503-6.

-
6. Miller G, Palmer KR, Smith B, Ferrington C, Merrick MV. Smoking delays gastric emptying of solids. *Gut*. 1989;30:50-3.
 7. Dodds WJ. The pathogenesis of gastroesophageal reflux disease. *Am J Roentgenol*. 1988;151(1):49-56.
 8. Moraes-Filho JPP, Chinzon D, Eisig JN, Zaterka S, Hashimoto CL. Prevalence of heartburn and gastroesophageal reflux disease in the urban Brazilian population. *Arq Gastroenterol*. 2005;42(2):122-7.
 9. Jones RH, Lydeard SE, Hobbs FDR, Kenkre JE, Williams EI, Jones SJ. et al. Dyspepsia in England and Scotland. *Gut*. 1990;31:401-5.
 10. Moraes-Filho JPP. Doença do refluxo gastroesofágico. In: Dani R, Castro LP. *Gastroenterologia Clínica* 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1993. v.1, p.372-84.
 11. Navarro-Rodrigues T, Eisig JN, Moraes-Filho JPP. Doença do refluxo gastroesofágico. *RBM*. 1999;56:67-75.
 12. Barham CP, Gotley DC, Mills A, Alderson D. Precipitating causes of acid reflux episodes in ambulant patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Gut*. 1995;36:505-10.
 13. Dent J, Holloway RH, Toouli J, Dodds WJ. Mechanisms of lower oesophageal sphincter incompetence in patients with symptomatic gastroesophageal reflux. *Gut*. 1988;29:1020-8.

-
14. Mittal RK, Holloway RH, Penagini R, Blackshaw LA, Dent J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology*. 1995;109:601-10.
 15. Kahrilas PJ, Dodds WJ, Hogan WJ, Kern M, Arndorfer RC, Reece A. Esophageal peristaltic dysfunction in peptic esophagitis. *Gastroenterology*. 1986;91:897-904.
 16. Armstrong D, Bennett JR, Blum AR, Dent J, De Damld FT, Galmide JP. The endoscopic assessment of esophagitis: A progress report on observer agreement. *Gastroenterology*. 1996;111:85-92.
 17. Holloway RH, Dent J. Pathophysiology of gastroesophageal reflux. *Gastroenterol Clin N Amer*. 1990;19(3):517-35.
 18. Mittal RK, Stewart WR, Schirmer BD. Effect of a catheter in the pharynx of the frequency of transient lower esophageal sphincter relaxations. *Gastroenterology*. 1992;103:1236-40.
 19. Boulant J, Fioramoti J, Dpoigny M. Cholecystokinin and nitric oxide in transient lower esophageal sphincter relaxation to gastric distention in dogs. *Gastroenterology*. 1994;107:1059-66.
 20. Hirsch DP, Holloway RH, Tytgat GNJ, Boeckxstaens GEE. Involvement of nitric oxide in human transient lower esophageal

- sphincter relaxations and esophageal primary peristalsis. *Gastroenterology*. 1998;115:1374-80.
21. Soteras F, Lanas A, Fiteni I, Royo Y, Jimenez P, Inarrea P, Ortego J, Esteva F. Nitric oxide and superoxide anion in low-grade esophagitis induced by acid and pepsin in rabbits. *Dig Dis Sci*. 2000;45(9):1802-9.
 22. Lanas A, Soteras F, Jimenez P, Fiteni I, Piazzuelo E, Royo Y, Ortego J, Inarrea P, Esteva F. Superoxide and nitric oxide anion in high-grade esophagitis induced by acid and pepsin in rabbits. *Dig Dis Sci*. 2001;46(12):2733-43.
 23. Konturek J W, Thor P, Lukaszyk A, Gabryelewicz A, Konturek SJ, Domschke W. Endogenous nitric oxide in the control of esophageal motility in humans. *J Physiol Pharmacol*. 1997;48(2):201-9.
 24. Tomita R, Kurosu Y, Munakata K. Relationship between nitric oxide and non-adrenergic non-cholinergic inhibitory nerves in human lower esophageal sphincter. *J Gastroenterol*. 1997;32:1-5.
 25. Tottrup A, Ny A, Alm P, Larsson B, Forman A, Anderson K-E. The role of the L-arginine/nitric oxide pathway for relaxation of the human lower oesophageal sphincter. *Acta Physiol Scand*. 1993;149:451-9.
 26. Paterson WG, Anderson MAB, Anand N. Pharmacological characterization of lower esophageal sphincter relaxation induced by

- swallowing, vagal efferent stimulation and esophageal distention. *Can J Physiol Pharmacol*. 1991;70:1011-5.
27. Yamato S, Saha JK, Goyal RK. Role of nitric oxide in lower esophageal sphincter relaxation to swallowing. *Life Sci*. 1992;50:1263-72.
28. Desai KM, Sessa WC, Vane JR. Involvement of nitric oxide in the reflex relaxation of the stomach to accommodate food or fluid. *Nature*. 1991;351:477-9.
29. Moncada S, Palmer RM, Higgs A. Nitric oxide; physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1991;43(2):109-42.
30. Bult H, Boeckxstaens GE, Pelckmans PA, Jordaens FH, Van Maercke YM, Herman AG. Nitric oxide as an inhibitory non-adrenergic non-cholinergic neurotransmitter. *Nature*. 1990;345:346-7.
31. Alm P, Larsson B, Anderson K. NADPH diaphrase activity and non-adrenergic non-cholinergic relaxation of the human gastrointestinal tract. *Acta Physiol Scand*. 1992;146:285-7.
32. Casselbrant A, Peterson A, Ruth M, Bove M, Lundell L, Fändriks L. Sources of intra-oesophageal nitric oxide production following intraluminal acid exposure. *Scand J Gastroenterol*. 2002;6:631-7.

-
33. Tomita R, Tanjoh K, Fujisaki S, Fukuzawa M. Physiological studies on nitric oxide in the lower esophageal sphincter of patients with reflux esophagitis. *Hepato-Gastroenterology*. 2003;50:110-4.
 34. Anand N, Paterson WG. Role of nitric oxide in esophageal peristalsis. *Am J Physiol*. 1994;266(1 Pt 1):G123-G31.
 35. Zhang Y, Paterson WG. Nitric oxide contracts longitudinal smooth muscle of opossum via excitation-contraction coupling. *J Physiology*. 2001;536 (1):133-40.
 36. Prekissatis HG, Treblay L, Diamant NE. Nitric oxide mediates inhibitory nerve effects in human esophagus and lower esophageal sphincter. *Dig Dis Sci*. 1994;39(4):770-5.
 37. Newton M, Kamm MA, Burham WR, Roy A, Roeloffs JMM, Akkermans LMA. Gastric compliance, sensation, and the relaxation response to a nitric oxide donor in health and reflux oesophagitis. *Digestion*. 1999;60:572-8.
 38. Cho CH. Current roles of nitric oxide in gastrointestinal disorders. *J Physiol Paris*. 2001;95(1-6):253-6.
 39. Kugle P, Drenckhanh D. Intrinsic source of stomach NO. *Nature*. 1994;370:25-6.

-
40. McKnight GM, Smith LM, Drummond RS, Duncan CW, Golden M, Benjamin N. Chemical synthesis of nitric oxide in the stomach from dietary nitrate in humans. *Gut*. 1997;40:211-4.
 41. Tannenbaum SR, Weisman M, Fett D. The effect of nitrate intake on nitrite formation in human saliva. *Fd Cosmet Toxicol*. 1976;14:549-52.
 42. Spiegelhalder B, Eisenbrand G, Preussmann R. Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: possible relevance to *in vivo* formation of *n*-nitroso compounds. *Fd Cosmet Toxicol*. 1976;14:545-8.
 43. Losser M-R, Payen D. Nitric oxide and the gastrointestinal tract. *Curr Opin Crit Care*. 1999;5(2):151-62.
 44. Whittle BJR. Nitric oxide and gastrointestinal injury. *J Gastroenterol Hepatol*. 1997;12S:A154.
 45. Ma L, Chow JYC, Liu ESL, Cho CH. Cigarette smoke and its extract delays ulcer healing and reduces nitric oxide synthase activity and angiogenesis in rat stomach. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999;26(10):828-9.
 46. Tanaka H, Kijima H, Tokunaga T, Takunga T, Tajima T, Henono S, Kenmocai T, *et al*. Frequent expression of inducible nitric oxide synthase in esophageal squamous cell carcinomas. *Int J Oncol*. 1999;14:1069-73.

-
47. Lundberg JON, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Intragastric nitric oxide production in humans: measurements in expelled air. *Gut*. 1994;35:1543-46.
 48. Benjamin N, O'Driscoll F, Dougall H, Duncan C, Smith L, Golden M. Stomach NO synthesis. *Nature*. 1994;368:502.
 49. Iljima K, Henry E, Moriya A, Wirz A, Kelman AW, McColl KEL. Dietary nitrate generates potentially mutagenic concentrations of nitric oxide at the gastroesophageal junction. *Gastroenterology*. 2002;122:1248-57.
 50. Dennish GW, Castell DO. Inhibitory effect of smoking on the lower esophageal sphincter. *N Engl J Med*. 1971;284(20):1136-7.
 51. Stanciu C, Bennett JR. Smoking and gastro-oesophageal reflux. *Br Med J*. 1972;3:793-5.
 52. Chattopadhyay DK, Greaney MG, Irvin TT. Effect of cigarette smoking on the lower oesophageal sphincter. *Gut*. 1977;18:833-5.
 53. Mohammed I, Nigtingale P, Trudgill NJ. Risk factors for gastro-oesophageal reflux disease symptoms: a community study. *Alim Pharmacol Ther*. 2005;22(1):75-6.
 54. Watanabe Y, Fujiwara Y, Shiba M, Watanabe T, Tominag K, Oshitani N. et al. Cigarette smoking and alcohol consumption associated with

- gastro-oesophageal reflux disease in Japanese men. *Scand J Gastroenterol*. 2003;38(8):807-11.
55. Nocon M, Labenz J, Willich SN. Lifestyle factors and symptoms of gastro-oesophageal reflux – a population-based study. *Alim Pharmacol Ther*. 2006;23(1): 169-74, 2006.
56. Nilsson M, Johnsen R, Ye W, Hveem K, Lageren J. Prevalence of gastro-oesophageal reflux symptoms and the influence of age and sex. *Scand J Gastroenterol*. 2004;39(11):1040-5.
57. Kadakia SC, Kikendall JW, Maydonovitch C, Johnson LF. Effect of cigarette smoking on gastroesophageal reflux measured by 24-h ambulatory esophageal pH monitoring. *Am J Gastroenterol*. 1995;90(10):1785-90.
58. Schindlbecker NE, Heinrich C, Dendorfer A, Pace F, Müller-Lissner S. Influence of smoking and esophageal intubation on esophageal pH-metry. *Gastroenterology*. 1987;92:1994-7.
59. Waring JP, Eastwood TF, Austin JM, Sanowski RA. The immediate effects of cessation of cigarette smoking in gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterology*. 1989;84(9):1076-8.
60. Sontag SJ, Schnell TG, Miller TQ, Nemchausky B, Serlovsky R, O'Connell S, et al. The importance of hiatal hernia in reflux

- esophagitis compared with lower esophageal sphincter pressure or smoking. *J Clin Gastroenterology*. 1991;13(6):628-43.
61. Rahal PS, Wrigth RA. Transdermal nicotine and gastroesophageal reflux. *Am J Gastroenterology*. 1995;90(6):919-21.
62. Wright RA, Goldsmith LJ, Ameen V, D'Angelo A, Kirby SL, Prakash S. Transdermal nicotine patches do not cause clinically significant gastroesophageal reflux or esophageal motor disorders. *Nicotine Tob Res*. 1999;1(4):371-4.
63. Trudgill NJ, Smith LF, Kershaw J, Riley SA. Impact of smoking cessation on salivary function in health volunteers. *Scand J Gastroenterol*. 1998;33:568-71.
64. Fung WP, Tye CY. Effect of smoking on gastric acid secretion. *Austr NZ J Med*. 1973;3:251-4.
65. Thomas GAO, Rhodes J, Ingram JR. Mechanisms of disease: nicotine – a review of its actions in the context of gastrointestinal disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol*. 2005;2(11):536-44.
66. Scott AM, Kellow JE, Shuter B, Nolan JM, Hoschl R, Jones MP. Effects of cigarette smoking on solid and liquid intragastric distribution and gastric emptying. *Gastroenterology*. 1993;104:410-6.

-
67. Nowak A, Jonderko K, Kaczor R, Nowak S, Skrzypek D. Cigarette smoking delays gastric emptying of a radiolabelled solid food in healthy smokers. *Scand J Gastroenterol*. 1987;22:54-8.
 68. Tugay M, Yildiz F, Utkan Z, Sarioglu Y. Impaired gastric motility in the gastroesophageal reflux rat model: an in vitro study. *J Surg Res*. 2003;115(2):272-8.
 69. Dua K, Bardan E, Ren J, Sui Z, Shaker R. Effect of chronic and acute cigarette smoking on the pharyngo-upper oesophageal sphincter contractile reflex and reflexive pharyngeal swallow. *Gut*. 1998;43:537-41.
 70. Lanas A, Hirschowitz BI. Influence of smoking on basal and on vagally and maximally stimulated gastric acid and pepsin secretion. *Scand J Gastroenterol*. 1992;27:208-12.
 71. Parente F, Lazzaroni M, Sangaletti O, Baroni S, Porro GB. Cigarette smoking, gastric acid secretion, and serum pepsinogen I concentrations in duodenal ulcer patients. *Gut*. 1995;26:1327-32.
 72. Guslandi M. Overview: smoke gets in your guts. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2000;12:833-5.

-
73. Johnson LF, De Meester TR, Haggitt RC. Endoscopic signs for gastroesophageal reflux objectively evaluated. *Gastrointest Endosc.* 1976;22:151-5.
 74. Orlando RC, Bryson JC, Powell DW. Effect of cigarette smoke on esophageal epithelium of the rabbit. *Gastroenterology.* 1986;91:1536-42.
 75. Norman V, Keith CM. Nitrogen oxides in tobacco smoke. *Nature.* 1965;205:915-6.
 76. Chambers DC, Tunnicliffe WS, Ayres JG. Acute inhalation of cigarette smoke increases lower respiratory tract nitric oxide concentrations. *Thorax.* 1998;53:677-9.
 77. Yate DH, Breen H, Thomas PS. Passive smoke inhalation decreases exhaled nitric oxide in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Medicine.* 2001;164:1043-46.
 78. Berenson MM, Sontag S, Robinson MG, McCallum RM, and GERD Study Group. Effect of smoking in a controlled study of ranitidine treatment in gastroesophageal reflux disease. *J Clin Gastroenterol.* 1987;9(5):499-503.
 79. Kuster E, Ros E, Toledo-Pimentel V, Pujol A, Bordas JM, Grande L, Pera C. Predictive factors of the long term outcome in gastro-

- oesophageal reflux disease: six year follow up of 107 patients. *Gut*. 1994;35:8-14.
80. Koeltz HR, Birchler R, Bretholz A, Bron B, Capitaine Y, Delmore G. et al. Healing and relapse of reflux esophagitis during treatment with ranitidine. *Gastroenterology*. 1986;91:1198-205.
81. Hetzel DJ, Dent J, Reed WD, Narielvala FM, Mackinnon M, McCarthy JH. et al. Healing and relapse of severe peptic esophagitis after treatment with omeprazole. *Gastroenterology*. 1988;95:903-12.
82. Gillessen A, Beil W, Modilin I, Gatz G, Hole U. 40 mg pantoprazole and 40 mg esomeprazole are equivalent in the healing of esophageal lesions and relief from gastroesophageal reflux disease-related symptoms. *J Clin Gastroent*. 2004;38(4);332-40.
83. Kahrilas P, Miner P, Johanson J, Mao L, Jokubaitis L, Sheldon S. Efficacy of rabeprazole in the treatment of symptomatic gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis Sci*. 2005;50(11):2009-18.
84. Holbrook JH. Nicotine addiction. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Marin JB, Fauci AS, Kasper DL. editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Thirteen Edition. New York: McGraw-Hill; 1994. p. 2433-8.

-
85. Okuyemi KS, Ahluwalia JS, Richter KP, Mayo MS, Resnicow K. Differences among African American light, moderate and heavy smokers. *Nicotine Tob Res.* 2001;3(1):45-50.
 86. Thun MJ, Henley SJ, Calle EE. Tobacco use and cancer: an epidemiologic perspective for geneticists. *Oncogene.* 2002;21(48):7307-25.
 87. Spechler SJ. Gastroesophageal reflux disease & its complications. In: Grendell JH, McQuaid KR, Friedman SL. *Current Gastroenterology Diagnosis & Treatment.* Stanford: Appleton & Lange; 1996. p.245-61.
 88. Pandolfino JE, Kahrilas PJ. Smoking and gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2000;12:837-42.
 89. Chesnutt MS, Prendergast TJ. Lung. In: Tierney Jr. LM, McPhee SJ, Papadakis MA. editors. *Current Medical Diagnosis & Treatment 2004.* New York: Lange Medical Books; 2004. p.212-305.
 90. Foigel EK, André EA, de Marco EK. Esofagogastroduodenoscopia. In: Cordeiro FTM. editor. *Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva.* São Paulo: Medsi; 2000. p.6-11.
 91. Navarro-Rodriguez T. *Influência da pressão abdominal no mecanismo de contenção do refluxo gastroesofágico. Estudo em pacientes com*

- ascite* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 1999.
92. Schindlebeck NE, Ippisch H, Klauser AG, Muller-Lissner SA. Which pH threshold is best in esophageal pH monitoring? *Am J Gastroenterol*. 1991;86:1138-41.
93. Anggiansah A, Sumboonnanonda K, Wang J, Linsell J, Hale P, Owen WJ. Significantly reduced acid detection at 10 centimeters compared to 5 centimeters above lower esophageal sphincter in patients with acid reflux. *Am J Gastroenterol*. 1993;88:842-6.
94. Jonhson LF, DeMeester TR. Development of the 24-hour intraesophageal pH monitoring composite scoring system. *J Clin Gastroenterol*. 1986;8(1):52-8.
95. Van Maanen JMS, Welle IJ, Hageman G, Dallinga JW, Mertens PLJM, Kleijans JCS. Nitrate contamination of drinking water: relationship with HPRT varian frequency in linphocyte DNA and urinary excretion of N-nitrosamines. *Envir Health Persp*. 1996;104:521-8.
96. Pajecki D. Estudo da redução de nitrato e da produção de compostos N-nitrosos na luz esofágica, mediadas por bactérias, em pacientes portadores de megaesôfago não-avançado [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2005.

-
97. Associação Brasileira de Psiquiatria [clipping diário de notícias on-line], [acessado em 01 de junho de 2007]. Disponível em: <http://www.abpbrasil.org.br/clipping/exibClipping/?clipping=4671>.
98. McCarty MF. Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes, and visceral obesity: down-regulation with essential fatty acids, ethanol and pentoxifylline. *Med Hypotheses*. 1999;52(5):465-77.
99. Crook MA, Scott DA, Stapleton JA, Palmer RM, Wilson RF, Sutherland G. Circulation concentrations of C-reactive protein and total sialic acid in tobacco smokers remain unchanged following one year of validated smoking cessation. *Eur J Clin Invest*. 2000;30(10):861-5.
100. McCarty MF. Increased homocysteine associated with smoking, chronic inflammation, and aging may reflect acute-phase induction of pyridoxal phosphatase activity. *Med Hypotheses*. 2000;55(4):289-93.
101. Scott DA, Stapleton JA, Palmer RM, Wilson RF, Sutherland G, Coward PY, et al. Plasma concentrations of reputed tumor-associated soluble CD44 isoforms (v5 and v6) in smokers are dose related and decline on smoking cessation. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000;9(11):1211-4.
102. McCarthy DM. Smoking and ulcers - time to quit. *New Engl J Medicine*. 1984;311:726-7.

-
103. Murthy SNS, Dinoso VP, Clearfield HR, Chey WY. Simultaneous measurements of basal pancreatic, gastric acid secretion, serum gastrin and secretin during smoking. *Gastroenterology*. 1977;73:758-61.
 104. Murthy SNS, Dinoso VP, Clearfield HR, Chey WY. Serial pH changes in the duodenal bulb during smoking. *Gastroenterology*. 1978;75:1-4.
 105. Sher ME, Bank S, Greenberg R, Sardinha TC, Weissman S, Bailey B, Gilliland R, Wexner SD. The influence of cigarette smoking on cytokine levels in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 1999;5(2):73-8.
 106. Armstrong D, Pare P, Pericak D, Pyzyj M, and the Canadian Pantoprazole GERD Study Group. Symptom relief in gastroesophageal reflux disease: a randomized, controlled comparison of pantoprazole and nizatidine in a mixed patient population with erosive esophagitis or endoscopy-negative reflux disease. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(10):2849-57.
 107. Sontag SJ, Kougt DG, Fleischmann R, Campbell DR, Richter J, Robinson M. et al. Lansoprazole heals erosive reflux esophagitis resistant to histamine H₂-receptor antagonist therapy. *Am J Gastroenterol*. 1997;92(3):429-37.

-
108. Nasi A, Cenati A, Moraes-Filho JPP, Cecconello I, Gama-Rodrigues JJ. Avaliação Pré-Operatória. In: Nasi A, Michelsohn NH. Avaliação Funcional do Esôfago – Manometria e pH-metria esofágicas. São Paulo: Roca; 2001. p.246-53.
 109. Smout, André JPM. História e futuro da pH-metria esofágica prolongada. In: Nasi A, Michelsohn NH. Avaliação Funcional do Esôfago – Manometria e pH-metria esofágicas. São Paulo: Roca; 2001. p.207-12.