ROBSON KIYOSHI ISHIDA

Flora bacteriana e citoquinas pró-inflamatórias no trato digestório exclusivo após cirurgia de derivação em Y de Roux para obesidade mórbida

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para a obtenção do titulo de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Cirurgia do Aparelho Digestivo

Orientador: Prof.º Dr. Joel Faintuch

São Paulo
2007

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra aos que padecem da obesidade mórbida e que se propõem a enfrentar a doença com coragem e determinação.

Em benefício e desenvolvimento da ciência e do mundo.

Aqueles de boa vontade

Em especial ao Professor Dr. Joel Faintuch, que durante anos colabora com o desenvolvimento da pesquisa científica e do ensino médico

Ao Dr. Shinichi Ishioka, eterno diretor, condutor e orientador de todos do Serviço de Endoscopia Digestiva do HC-FMUSP

E aos meus pais: pacientes, presentes e amigos em todos momentos da minha vida

AGRADECIMENTOS

Professor Doutor Joel Faintuch
Doutor Shinichi Ishioka
Professor Doutor Paulo Sakai
Doutor Eduardo G. H. Moura
Professor Doutor Ivan Cecconello e Professor Doutor Joaquim Gama-Rodrigues
Rogério Kuga; Dra. Adriana S. Ribeiro

Equipe do LIM 51-FMUSP
Hermes V. Barbeiro; Denise F.
Barbeiro; Francisco G. Soriano
Equipe da Seção de Micorbiologia Alimentar do Instituto Adolfo Lutz
Dra. Miyoko Jakabe; Ana M. R. Paula; Christiane A.
Risttori; Sabrina N. Silva; Elaine S. Gomes

Serviço de Endoscopia Digestiva do Hospital das Clinicas HC-FMUSP de São Paulo e do Departamento de Cirurgia do Aparelho Digestivo:
Dra. Rejane Mattar

Todos médicos assitentes do Serviço de Endoscopia Digestiva do Hospital das Clinicas HC-FMUSP de São Paulo e do Departamento de Cirurgia do Aparelho Digestivo, Dr. Mitsunori Matsuda e Dr. Paulo Engler, Edson Ide

Equipe de anestesistas, em especial, Dr. Paulo Mix
Enf. Maria das Graças; aux. Enf. Tonilene; recep. Suzy e todas equipes de enfermagem e secretariado do serviço de endoscopia digestiva do Hospital das Clinicas HC-FMUSP de São Paulo e do Departamento de Cirurgia do Aparelho Digestivo, em especial à Srta.Vilma

Ao grupo de psicologia, em especial à psicóloga Marlene
Fuji Photo Optical Co

Aos pacientes que participaram dessa pesquisa

Meus pais Yuiti e Yvone, minha irmã Solange e em especial, Ana Paula

Agradeço a dedicação, disponibilidade, colaboração, interesse pela ciência, gestos de boa vontade e mais importante de tudo o companheirismo, harmonia no trabalho em equipe e a amizade conquistado durante o longo período desse estudo.

Muito obrigado a todos que foram testemunhas das vitórias da ciência e boa vontade sobre as dificuldades do país e do cotidiano.

ÍNDICE

RESUMO
SUMARY
TABELA DE FIGURAS E GRAFICOS

1 INTRODUÇÃO 01

1.1 Epidemia da Obesidade 02

1.2 Cirurgia Bariátrica 03

1.3 Septação gástrica e derivação intestinal tipo Capella 03

1.4 A Cirurgia de Capella no Brasil 04

1.5 O problema da alça exclusa 04

1.6 Síndrome da alça cega e proliferação bacteriana 05

1.7 Síndrome da alça cega nos primórdios da cirurgia bariátrica (Payne e Scott) 06

1.8 Alça atípica: banhada por suco gástrico 07

1.9 Importância de seguimento diagnóstico das vísceras fora do trânsito 08

1.10 Proliferação bacteriana e agressão citoquínica 08

1.11 Fungos e Bactérias 09

JUSTIFICATIVAS DO TRABALHO 11

OBJETIVOS 11

1 Gerais 11

2 Específicos 11

2 CASUÍSTICA E MÉTODOS 12

Critérios de inclusão e exclusão 13

Métodos 14

Figura 1-Técnicas 15

1Desenho experimental 15

2 Métodos clínicos e laboratoriais **15**

Figura 2-Enteroscópio de duplo balão **16**

Figura 3-Imagem achado endoscópico **17**

Figura 4-Imagem achado endoscópico **17**

Figura 5-Imagem achado endoscópico **18**

Figura 6-Imagem achado endoscópico **18**

Figura 7-Imagem achado endoscópico **19**

Figura 8-Imagem de acessórios **20**

Figura 9-Imagem de acessórios **20**

3 MATÉRIAS **22**

3.1 Dosagem de citoquinas **23**

3.2 Rotina microbiológica **27**

3.3 Medição de Ph **27**

Figura 10-papel de tornasol **28**

3.4)Teste respiratório **28**

Figura 11-cromatógrafo de gases **29**

MÉTODOS ESTATÍSTICOS **29**

4 RESULTADOS **30**

5 DISCUSSÃO **39**

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS **46**

7 CONCLUSÕES **48**

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **51**

9 APÊNDICES **66**

QUESTIONÁRIO PADRÃO **69**

RESUMO

Flora bacteriana e citoquinas pró-inflamatórias no trato digestório excluso após cirurgia de derivação em Y de Roux para obesidade mórbida.
Robson K. Ishida

Introdução: Em estudo prospectivo, os efeitos da gastroplastia redutora com reconstrução em Y de Roux sobre a flora bacteriana e produção de citoquinas nas câmaras gástricas proximal e excluída foram estudados. Métodos: pacientes bariátricos (n=37) foram submetidos à avaliação endoscópica em ambos reservatórios gástricos,7,3+-1,4 anos após a gastroplastia. Idade foi de 42,4+-9,9 anos (70,2% sexo feminino), IMC pré-operatório de 53,5+-10,6, e IMC atual de 32,6+-7,8kg/m2. TNF-alfa e TGF-beta foram medidos pelo método ELISA em biópsias da mucosa gástrica., assim como cultura quantitativa da secreção gástrica, com pH gástrico e teste respiratório lactulose/hidrogênio.Resultados: Nenhum dos pacientes apresentou queixas sugestivas de supercrescimento bacteriano gastrointestinal. Todavia, contagens elevadas de bactérias e fungos foram identificadas nas duas câmaras, principalmente no estômago proximal. Gram-positivos representaram a maioria dos isolados. O pH foi neutro na câmara proximal, enquanto que também na câmara distal nem sempre conservou-se em níveis esperados. Conclusões: 1)Produção elevadas de TNF-alfa e TGF-beta, com a colonização de aeróbios, anaeróbios e fungos em ambas câmaras gástricas foram identificadas; 2)O pH gástrico como a contagem bacteriana foram maiores no estômago proximal funcionante; 3)Teste respiratório foi positivo para supercrescimento bacteriano em 40,5% dos pacientes,entretanto não foram identificadas manifestações clínicas de supercrescimento bacteriano gastrointestinal.

SUMARY

Microbial flora and proinflammatory cytokines in excluded digestive tract
after Roux en-Y gastric bypass for morbid obesity
Robson K. Ishida
Background: In a prospective study, the effect of Roux-en-Y gastric bypass (RYGBP) on bacterial flora and cytokines production in the used (proximal pouch) and unused (large bypassed) gastric chamber was analysed.Methods: Bariatric subjects (n=37) were submitted to endoscopic examination of both
gastric reservoirs, 7.3 ± 1.4 years after RYGBP. Age was 42.4 ± 9.9 years (70.2% females), preoperative BMI was 53.5 ± 10.6, and current BMI was 32.6 ± 7.8 kg/m2.TNF-alpha and TGF-beta were meausured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) from gastric mucosal biopsies. Quantitative culture of gastric secretion along with gastric pH and lactulose/hydrogen
breath test were also investigated.Results: None of the subjects displayed complaints suggestive of GI bacterial overgrowth. Elevated counts of bacteria and fungi were identified in both chambers, mostly in the proximal stomach. Gram-positives represented the majority of the isolates. Gastric pH was neutral in the proximal pouch, whereas the distal chamber mostly but not always onserved the expected acidity.Conclusions:1)Increased TNF-alpha and TGF-beta production, as aerobes, anaerobes and fungi colonization of both gastric chambers was detected;2)Gastric pH as well as bacterial count was higher in the functioning proximal stomach; 3) Breath test was positive for
bacterial overgrowth in 40.5% of the subjects , however clinical manifestation of GI bacterial overgrowth were not demonstrated;

TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1-Características gerais da população 31

Tabela 2-Características do grupo controle 31

Tabela 3-Dados bioquímicos 32

Tabela 4-Achados microbiológicos 33

Tabela 5-Distribuíção de altas contagens dentro dos resultados de cultura 34

Tabela 6-Morfologia das principais culturas bacterianas 34

Tabela 7-Ph gástrico e teste respiratório 35

Tabela 8-Concentrações de citoquinas na mucosa 36

Tabela 9-Correlações gerais das citoquinas 37

Tabela 10- Correlações entre citoquinas, colonização bacteriana e infecção pelo H. pylori 38

Proteínas 30/03/2006 68

Curva TNF-ALFA 03/02/2005 69

Curvas TGF-beta 19/08/2005 e 25/04/06 70

Curva TNF-ALFA 18-08-2006 71

Tabela Geral de resultados 72

1.INTRODUÇÃO

1.1 A epidemia da obesidade.

A obesidade mórbida é uma doença crônica e metabólica de origem parcialmente genética (1,2) e de influência multifatorial (3-5). A exposição de indivíduos predisponentes à obesidade, a variáveis demográficos (6), ambientais ou comportamentais (3, 4) e sócio-culturais (4) que estimulam a ingestão alimentos calóricos e hábitos sedentários são, dentre outros, fatores desencadeantes de suma importância. A soma e análise destes fatores criam um "perfil" epidemiológico da doença, tendo suas particularidades nos diversos países.

É alta a prevalência em numerosos países desenvolvidos ou em desenvolvimento, com aumento da taxa de ascensão sobretudo nas últimas duas décadas. Em 1999, 61% dos adultos e 13% das crianças e adolescentes americanos padeciam de excesso de peso (8); na Alemanha, 50% da população adulta exibem sobrepeso e 20% são obesos (7). No Brasil, estima-se que 13,3% da população sejam obesos, com preponderância do sexo feminino (9). A taxa de ascensão da obesidade gira em torno de 0,36 pontos percentuais ao ano no Brasil, pouco abaixo das encontradas nos países desenvolvidos (entre 0,5 e 1,0% ao ano). Todo este panorama levou as Instituições de Saúde norte-americanas (NIH/USA) a priorizar este fenômeno como epidemia mundial (6).

Estudos mostram que o indivíduo obeso tem aumento de 50 a 100% do risco de morte, comparando com os não obesos (8) e mortalidade 12 vezes superior nos morbidamente obesos (12). Nos EUA estima-se que cerca de 300.000 óbitos/ano estão relacionados aos males diretos e indiretos da obesidade, colocando-se como segunda causa de óbito por fatores evitáveis (9); com custos também ocupando a segunda posição na hierarquia nacional e a caminho da primeira (atualmente tabagismo). Calcularam-se em cerca de US$ 117 bilhões em 2000 (17,18).

O manuseio clínico da obesidade é difícil. Não somente o emagrecimento mas, principalmente, a manutenção da perda de peso, é impossível para a maioria dos grandes obesos. Estudos demonstram que a redução de 10% do peso inicial são suficientes para melhorar as co-morbidades (10), mas cerca de 30 a 35% em um ano e 50% em cinco anos recuperam peso (11). Dentre outros aspectos também comprometidos pela doença, podemos incluir fatores psicológicos (20), como a depressão, frustrações e baixa auto-estima, que contribuem para o abandono do tratamento.

Nesta conjuntura, o tratamento cirúrgico denominado cirurgia bariátrica que surgiu na década

de 50 e que no decorrer dos anos foi aprimorado, é atualmente vista como tratamento de escolha na obesidade grave. Parâmetros adotados foram levantados com o interesse de definir as indicações do procedimento cirúrgico (17,18).

1.2 Cirurgia bariátrica.

Os Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos estabeleceram um consenso (1992) (15) e solidificaram a indicação cirúrgica para obesidade mórbida, sendo as operações mais praticadas as restritivas e derivativas gastrointestinais (13).

As cirurgias derivativas intestinais, baseando-se no princípio de reduzir o aproveitamento dos alimentos ingeridos, por redução da área de absorção de nutrientes (intervenções disabsortivas), tiveram seu auge nas décadas de 1960 e 1970. Os resultados,porém, foram desfavoráveis (24-29). A partir dos anos 80, grande parte das técnicas derivativas evoluiu, com ênfase também no estômago, seja recebendo papel restritivo, com retardo do esvaziamento gástrico (anéis e bandas), seja por redução da capacidade de armazenamento. Recentemente, a combinação dos elementos restritivos e disabsortivos conhecida como técnica mista (30-34), assumiu a dianteira, demonstrando resultados satisfatórios e permanentes a longo prazo. Durante as últimas duas décadas, muitas opções cirúrgicas foram melhoradas, notadamente as executadas por vídeo-laparoscopia (44-48).

1.3 Septação gástrica e derivação intestinal tipo Capella.

Dentre as técnicas consagradas mistas, avultam a de Capella et al. (1990) (35,39) e Fobi et al.(1991) (36,37), muito semelhantes, associando gastroplastia vertical com bandagem (Mason et al.) (24) e a derivação gastrojejunal em Y-de-Roux. Na confecção da neo-câmara utiliza-se pequeno segmento gástrico de 8-10cm de extensão, com capacidade restrita a 30-50ml. Esta é **cerclada** externamente por anel plástico inextensível de 6,3cm de comprimento para prevenir futuras dilatações, posicionado a 3cm de sua extremidade distal, e calibrado para 2,3cm de luz. Uma derivação em Y de Roux de 100cm é intercalada até a primeira ou segunda alça jejunal, permanecendo o estômago principal, duodeno e início do jejuno excluídos do trânsito alimentar.

1.4 A cirurgia de Capella no Brasil.

No Brasil esta modalidade de tratamento foi sendo difundida apesar das restrições administrativas e econômicas, mercê do número elevado de pacientes e altos custos para as instituições de saúde no que se refere a cuidados das co-morbidades. A operação de septação gástrica com derivação intestinal (Capella ou assemelhadas), já classificada como padrão-ouro da cirurgia bariátrica pela comunidade cirúrgica norte americana, também no Brasil, incorporou-se como a intervenção mais praticada.

Neste ímpeto, o Grupo de Cirurgia da Obesidade do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo realiza rotineiramente a derivação gastro-jejunal em Y de Roux com anel de silicone (DGJYRA) desde 1993. Na instituição há mais de 400 casos operados, sendo que, no país, estima-se em mais de 5.000 / ano as intervenções anti-obesidade, em sua maioria na modalidade Capella.

Os índices de complicações moderadas e graves somam 4% e a mortalidade, aproximadamente 1% , constituindo-se a embolia pulmonar na principal causa de morte(46). Múltiplas complicações precoces e tardias foram identificadas, dentre elas desnutrição, hipovitaminoses e anemia (50,51). Devido à grande complexidade do tratamento cirúrgico, há necessidade do suporte de várias especialidades (endoscopia, psicologia, nutrição, endocrinologia, cardiologia, entre outras) (20-23), as quais vêm, sem interrupção, estudando e propondo aprimoramentos para a recuperação global dos pacientes. (35)

1.5 O problema da alça exclusa.

Técnicas cirúrgicas, desenvolvidas durante a história da cirurgia moderna (principalmente nas últimas quatro décadas) e determinadas complicações características conduziram à criação do conceito de alça exclusa. É definida como o segmento do trato digestivo, confeccionada cirurgicamente, não envolvido na passagem do alimento em seu processo digestório, mas que não impede a digestão alimentar. O principal interesse da elaboração da alça exclusa nas cirurgias digestivas altas, entre outras modalidades pelo Y de Roux, foi o de se evitar o retorno do conteúdo biliar para o estômago e esôfago, nas gastrectomias parciais e totais respectivamente.

Estudos demonstraram que o contato de material alcalino, proveniente de refluxo ênterо-biliar, cursa com agressão e irritação da mucosa não preparada para tal pH, comum nas

cirurgias derivativas gastrointestinais (79,80). A evolução e manutenção deste processo irritativo estão relacionadas a várias complicações. A princípio, inflamação evoluindo com cronificação do processo, subsequentemente, atrofia, submetendo a área acometida a riscos aumentados relacionados a ulcerações, metaplasia intestinal (94), lesões pré-malignas e malignidade (câncer maligno) (95).

O conceito de se confeccionar um segmento longo o suficiente para se evitar tal refluxo foi consagrado pela freqüência de seu uso. O comprimento desta alça influi importantemente no pós-operatório. Passados anos de experiência, desvantagens foram contactadas, principalmente nos segmentos longos de alça (83). Vários fatores de gravidade foram determinados. Os mais importantes parecem ser a capacidade de esvaziamento do conteúdo intraluminal, a passagem de suco digestivo por este segmento, o comprimento da alça e o contato com conteúdo de alta concentração bacteriana, com diferentes patógenos. Quanto mais lentificado o trânsito, menor fluxo de enzimas, e maior contato com setores altamente colonizados como o intestino grosso, maior o crescimento bacteriano (77). Nos segmentos muitos longos, complicações mecânicas foram também identificadas: volvos, herniações, obstruções, intussuscepções e perfurações. Ainda que menos dramática, avulta pelo seu impacto a longo prazo, a síndrome da alça cega.

1.6 Síndrome da alça cega (Blind loop syndrome) e proliferação bacteriana.

A definição desta síndrome envolve usualmente elementos conhecidos e determinados. O diagnóstico, nominalmente no contexto da obesidade mórbida, inicia-se com história de cirurgia abdominal prévia com confecção de uma alça exclusa. Como já comentado, os quatro elementos clássicos que interferem no seu surgimento são: dismotilidade cursando com retardo no esvaziamento luminal, passagem de conteúdo líquido ou sucos digestivos, contato e contaminação mediante diferentes floras bacterianas e o comprimento da alça.(91)

Na sua forma completa, o quadro clínico abrange dor abdominal, flatulência, diarréia ou esteatorréia e manifestações disabsortivas como hipovitaminoses, anemia, osteoporose e perda de peso excessiva (59). Alterações hepáticas incluindo elevação de enzimas, icterícia e até cirrose são admitidas, após a absorção de toxinas bacterianas (Vage, Huseman – 107,109).

A dismotilidade do segmento seccionado no ato cirúrgico é justificada por redução da capacidade de esvaziamento luminal decorrente de lentificação das ondas peristálticas, proporcionando um tempo maior de contato do suco entérico com a mucosa e proliferação bacteriana. A velocidade de fluxo parece estar relacionada com o comprimento, a presença ou

não de suco entérico e os elementos componentes da flora.(92) Estudos demonstram que quanto mais longa a víscera, menor o teor de suco entérico e maior o contato com segmentos distais , mais extensa a proliferação bacteriana.

Os elementos da flora bacteriana produzem toxinas que, uma vez absorvidas, agem diretamente na mucosa local e sobre outros órgãos, principalmente o fígado e os rins. As conseqüências desta ação danosa das toxinas podem atingir grandes dimensões e levar ao óbito(58,61-68)

A literatura descreve associação de complicações relacionadas à confecção e conseqüente proliferação bacteriana e produção de toxinas. Além das derivações intestinais também, recentemente, nas técnicas de Scopinaro e Marceau-Hess ("duodenal switch") (65). Langdon et al.-1993 (68), correlacionou-se proliferação bacteriana à hepatopatia causada pela absorção de toxinas entéricas e Garzons et al.-2004 (61), identificou-se desnutrição nos pacientes com sinais e sintomas sugestivos de supercrescimento bacteriano e correspondentes à síndrome da alça cega. Tal ocorreu apesar da constante drenagem pelo peristaltismo e pela passagem do suco bílio-pancreático pela alça.

A associação de alça bílio-pancreática com a inversão duodenal também esteve relacionada com o supercrescimento bacteriano, tal como descrito por Sekhar et al.-2003(69). Portanto, a literatura abre precedentes para a suspeita de alterações no esvaziamento da alça intestinal e supercrescimento bacteriano nos pacientes submetidos às cirurgias que incluem a confecção da alça bílio-pancreática.

1.7 Síndrome da alça cega nos primórdios da cirurgia bariátrica (cirurgias de Scott e Payne).

O princípio do tratamento cirúrgico para obesidade aconteceu com o bypass intestinal, baseado na redução do aproveitamento de alimentos ingeridos, a partir de conhecimentos acumulados nas grandes cirurgias ablativas, que cursavam com significativa perda ponderal. Os procedimentos cirúrgicos iniciais consistiram em criar efeito disabsortivo, por meio de exclusão de grande segmento do intestino delgado.

Payne et al., em 1956 (100) e depois Scott et al. (102,103) propuseram um bypass jejuno-cólico, com anastomose do jejuno proximal ao colo transverso, com preservação da válvula íleo-cecal.(100-109) Diarréias intoleráveis aos pacientes e a síndrome da alça cega forçaram seu abandono.

No decorrer da década de 1960 o bypass jejuno-ileal popularizou-se. Payne alterou sua

técnica original realizando uma anastomose em “T”. Apesar da adoção em algumas partes do mundo por quase 20 anos e da grande perda de peso, essas técnicas foram progressivamente abandonadas na década de 1980 devido ao grande número de complicações, incluindo-se desnutrição grave, síndrome disabsortiva e a síndrome da alça cega. Não era desprezível o número dos indivíduos que morriam de insuficiência hepática, e se atribuía parte do problema à absorção de toxinas bacterianas originárias da alça cega. (92,94).

Com os procedimentos atualmente em uso, a icterícia, insuficiência hepática e óbitos tardios tornaram-se extremamente raros, diminuindo o interesse pelo problema. Entretanto, este não é um ponto de todo irrelevante, dadas às consequências potencialmente lesivas para o fígado (absorção de toxinas bacterianas) e para o epitélio intestinal (irritação e agressão inflamatória crônica) resultados de alguns procedimentos (105).

1.8 Alça atípica: banhada por suco gástrico.

. Uma alça exclusa, constituída de segmento gástrico remanescente, duodeno e cerca de 50cm de alça jejunal, difere de outras alças exclusas, pois é banhada por suco gástrico e não exclusivamente por suco entérico. O seu longo comprimento envolve também dificuldades para avaliação diagnóstica e rastreamento de eventuais complicações a longo prazo. É sabido que determinadas gastrectomias evoluem para atrofia da mucosa, principalmente devido ao refluxo biliar e os riscos, aumentados pelo surgimento de lesões malignas, determinam cuidados. A impossibilidade de se avaliar sistemática e periodicamente tal segmento, resultam em desinformação a respeito de sua evolução e diagnóstico (78-79).

Nota-se que os raros casos de síndrome da alça cega documentadas na experiência bariátrica recente, dizem respeito exclusivamente a pacientes submetidos à cirurgia de Scopinaro (65,68). Em que pesem eventuais suspeitas, não há registro de proliferação bacteriana e produção de gases tóxicos que são absorvidos pela circulação entérica, levando toxinas aos rins, coração e fígado com intoxicações severas até insuficiência hepática, com a técnica de Capella.

1.9 Importância de seguimento diagnóstico das vísceras fora do trânsito.

Mesmo que não se considerasse a possibilidade de lesões específicas neste território, mediadas por possível proliferação bacteriana e outros fenômenos irritativos, o fato de que o estômago e parte do intestino estarão inacessíveis para toda a vida, deveria suscitar algumas preocupações.

Neste sentido, embora raros, já se descrevem tumores tardios no estômago diverticulizado da cirurgia tipo Capella. (110-112)

A literatura descreve tentativas da avaliação endoscópica deste segmento, com uso de aparelhagem improvisada e resultados pouco consistentes. O segmento gástrico excluso tornou-se um desafio aos endoscopistas e a investigação deste segmento é sempre difícil(78-80,83).

O advento do aparelho direcionado para avaliação do intestino delgado, com sistema de duplo balão e "overtube", modelo EN-450P5 (Fujinon Corporation), com 230cm de comprimento, 12.2mm de diâmetro máximo ("overtube") e canal de trabalho de 2,2mm de diâmetro (81), vem se mostrando promissor na avaliação do estômago remanescente(82,88).

A pesquisa de infecção por *H. pylori* é outro interesse de tal investigação. Ela está presente em cerca de 2/3 da população geral e comprovadamente relaciona-se a alterações endoscópicas e histológicas, como a gastrite atrófica (30)e o câncer gástrico, principalmente o linfoma MALT (71-72,75-77). Há também relatos de infecção pelo *H. pylori* em operados de cirurgia bariátrica com reconstrução em Y de Roux. Todavia a avaliação tem sido obtida na pequena bolsa gástrica acessível, não havendo estudos direcionados ao grande estômago remanescente (73-74).

1.10 Proliferação bacteriana e agressão mediada pelas citoquinas:

A coleta de amostras e seu cultivo microbiológico são as formas tradicionais para se identificar a flora bacteriana domiciliada num ambiente, podendo esta relacionar-se ou não com sintomas ou sinais (infecção propriamente dita). Muitas vezes, inexiste infecção ou sintomatologia (colonização ou contaminação), surgindo dúvidas sobre a real representatividade do patógeno (146). A literatura descreve mudanças do ambiente colônico e ileal durante a infância, e a microbiota sofre alterações de suas populações de germes devido ao constante processo de contaminação pelo meio externo (alimentação, intoxicações alimentares) em que há aquisição e predominância de determinados grupos(163).

A convivência entre eles, determina o ambiente local, tal como a produção de metabólitos e catabólicos, que são absorvidos pela mucosa entérica e, em parte, migram para a circulação sistêmica.As funções anabolizantes dos subprodutos da digestão alimentar correspondem às atividades positivas do ambiente intestinal. A utilização destes mesmos elementos energéticos ou geradores de energia, por bactérias, fungos e até parasitas os quais convivem, reproduzem e interagem entre si, poderá interferir na saúde ou ocasionar doença(157,162).

Sabe-se que determinadas bactérias são responsáveis pela metabolização de certos compostos, gerando energia em forma alternativa, mesmo em anaerobiose. A fermentação é um processo conhecido de obtenção de energia e atuação dos agentes microbianos gera diferentes compostos que, em concentrações elevadas, podem determinar sintomas, sinais e inflamação(149-152).

É sabido que determinadas citoquinas estão alteradas nas infecções. São mediadores presentes e aumentados nos processos inflamatórios. Estudos sugerem dois mecanismos de indução conduzindo à expressão das citoquinas: a ação direta da flora bacteriana, habitual ou em desequilíbrio, e a ação lesiva e irritativa tipicamente local. Contrasta com esta a ação indireta, com resposta sistêmica pela ação de toxinas, afetando órgãos ou tecidos à distância. Sabe-se que nos estados infecciosos intestinais, as interleuquinas 10 e 6 estão reduzidas, enquanto o TNF aumentado. (139-141).

As interleuquinas 10 e 14 exibem função anti-inflamatória, enquanto que o TNF, IL-6, IL-1 e alguns outros mediadores se revestem de qualidades pró-inflamatórias, nas doenças inflamatórias intestinais e em outras situações. Os receptores se combinam com a proteína ligante, prolongando ou abreviando a meia vida de circulação das citoquinas, o que pode resultar em efeito tanto agonista ou antagonista.(123,134)

Nos pacientes operados pela técnica de Capella, a alteração no trânsito do bolo alimentar pode conduzir a uma alteração nesta flora. A cultura destas secreções é desejável, porém não necessariamente, reflete a ocorrência e intensidade de resposta inflamatória. Esta informação pode proporcionar-se pela dosagem de citoquinas. A coleta de amostras nestes segmentos e sua análise ao lado da cultura bacteriana esclareceriam dúvidas sobre os resultados tardios da cirurgia de Capella.

1.11 Fungos X bactérias

Os fungos são eucariontes, ou células dotadas de núcleo. Estes têm uma membrana nuclear diferenciada e um núcleo policromossômico. A maioria se reproduz na forma

assexuada, produzindo esporos, ou da forma sexuada como no acasalamento entre sorotipos diferentes. Quanto à morfologia, há fungos definidos como bolores ou mofos. Correspondem àqueles com crescimento através de hifas ou os zigomicetos (brotos e ramificações). As leveduras são esféricas e se dividem por cissiparidade (divisão central). Todavia, há fungos com apresentação dimórfica (*Histoplasma capsulatum, Paracoccidioides brasiliensis, Blastomyces dermatitidis*), tanto em bolores como em leveduras (formações esféricas), dependendo das condições ambientais.(146-147,171). As três apresentações morfológicas são identificadas no homem.

As bactérias são seres procariontes (anucleados), somente com um cromossomo em dupla espiral sem o envólucro nuclear. São classificadas também pela morfologia em bacilos, cocos e coco-bacilos. Os primeiros são menores e em forma de bastão, alguns flagelados ou móveis, enquanto que os cocos são maiores, esféricos e, predominantemente, imóveis(146,171).

A diferenciação inicial mais praticada para as bactérias fundamenta-se na capacidade de reter corante de pH básico (cristal violeta) após fixação com iodo e descoloração com álcool, descrito no método ou reação de Gram. As bactérias consideradas Gram positivas retém o corante, revelando-se negativas aquelas com cápsula de lipopolissacarídeos que impedem a retenção do violeta e correspondem às endotoxinas características de seu grupo. Outras formas de classificação das bactérias incluem sua capacidade de localização e multiplicação intracelular (Salmoneloses, Cólera), com a presença de ar ambiente (aeróbios) ou não (anaeróbios) (170).

A grande maioria dos agentes bacterianos identificados na flora intestinal corresponde a bastonetes entéricos Gram-negativos, entre eles a *E. coli*, espécies de *Klebisiella* e *Pseudomonas*.(159-163)

O conjunto de espécies diferentes em equilíbrio define o conceito de flora bacteriana nativa. A redução da colonização local pode acarretar predominância de agentes patogênicos, determinando a doença. A função protetora da flora bacteriana normal e nativa pode ser justificada através de mecanismos conhecidos: utilizando os nutrientes e ocupando o local, produzindo substâncias bacteriostáticas ou inibidoras da proliferação de patógenos e induzindo imunidade cruzada no hospedeiro(154-156). Há um número pequeno de agentes bacterianos considerados prejudiciais ao ser humano, mas a população aumentada mesmo de agentes comuns da flora bacteriana local pode causar doença, principalmente quando os mecanismos de proteção e imunidade estão comprometidos (157-160).

JUSTIFICATIVAS DO TRABALHO

As informações disponíveis não registram a existência de síndome da alça cega nem supercrescimento bacteriano em pacientes submetidos à cirurgia de Capella por obesidade mórbida.

Em contrapartida há razões para se suspeitar que a exclusão do trânsito de grande segmento do trato entérico possa se acompanhar de repercussões adversas a longo prazo.

Diante desta possibilidade, um estudo clínico prospectivo foi desenhado, visando esclarecer a flora bacteriana e diversos marcadores relacionados na citada população.

Objetivos:

- Gerais: Avaliar endoscopicamente segmentos do trato digestório excluídos na cirurgia de gastroplastia redutora à Capella, com mais de 3 anos da operação.
- Específicos:

  a. Dosagem de citoquinas com o interesse de refletir a intensidade do processo inflamatório crônico através de biópsias em estômago no trânsito e fora dele;

  b. Coleta de suco digestivo nos mesmos locais, com identificação da flora microbiana por culturas .

2. CAUSUISTICAS E METODOS

A população foi constituída por 42 enfermos consecutivos e não selecionados, tratados com cirurgia por obesidade mórbida pela técnica de gastroplastia vertical com anel e anastomose em Y de Roux à Capella no Hospital das Clínicas da FMUSP. Todos aqueles que apresentavam infecção pelo *H. pylori* foram devidamente tratados e somente submetidos à cirurgia após a comprovação de erradicação, conforme rotina do Serviço.

Um grupo de 10 obesos não operados foi estudado como população controle, para obtenção de valores padrão das citoquinas gástricas em estudo, as quais não eram disponíveis nesta população.

Critérios de inclusão:

- Idade de 18 a 65 anos, ambos os sexos.
- Cirurgia de gastroplastia redutora com reconstrução em Y de Roux (Capella), aberta ou fechada (Vídeo-laparoscópica) e *H. pylori* ausente.
- Com ou sem colecistectomia prévia.
- Período de seguimento > 36 meses.
- Em investigação no Serviço de Endoscopia por sintomas digestivos ou outras causas
- Em condições para avaliação endoscópica e coleta de material para análise e cultura.
- Consentimento autorizado

Critérios de exclusão:

- Enfermidade crítica, choque, coma ou quadro terminal.
- Deformidades anatômicas gastrointestinais por úlceras, estenoses ou outras operações que inviabilizem o procedimento endoscópico.
- Hepatite crônica, esquistossomose, cirrose, hipertensão portal, moléstia de Wilson ou cirurgia hepática prévia.
- Alcoolismo ou outra dependência química.

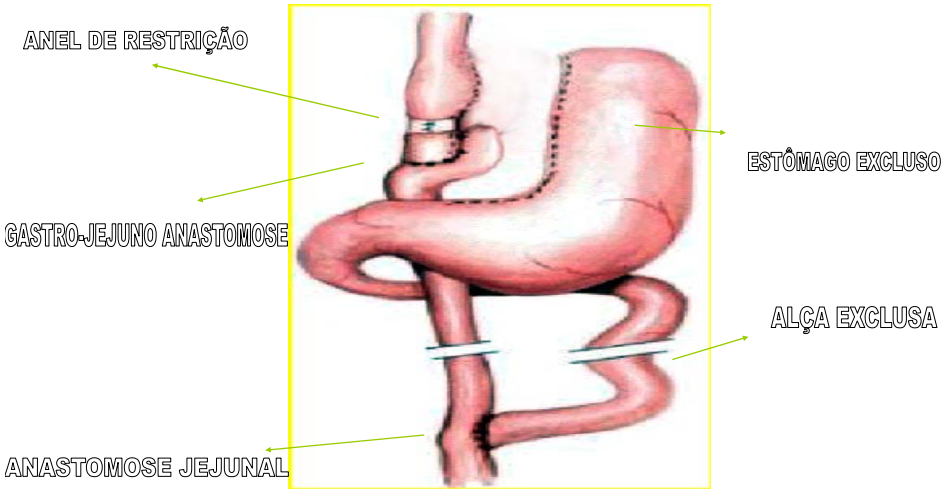
- Reversão da cirurgia bariátrica por qualquer motivo.
- Uso de antibióticos ou infecções no momento das avaliações.
- Alimentação por sondas, gastrostomia ou jejunostomia.
- Hemorragia gastrointestinal ou uso de antiácidos
- HIV/AIDS e uso de drogas imunomoduladoras
- Dificuldade de entendimento ou recusa em participar do estudo

Métodos:

No período de 12meses, de agosto de 2004 a agosto de 2005, 35 pacientes consecutivos, 71,4% do sexo feminino, idade 42,4 +-9,9 anos, todos previamente submetidos à gastroplastia aberta com bandagem e reconstrução em Y de Roux para obesidade mórbida(21-66), foram recrutados neste protocolo(figura 1).

O grupo controle foi composto por 10 pacientes dentro de índices de obesidade mórbida e indicação cirúrgica para gastroplastia com reconstrução em Y de Roux, ou seja, todos com IMC superiores a 40kg/m2 ou acima de 35kg/m^2 e co-morbidades (apnéia do sono, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus ou coronariopatias). No grupo controle 80% dos pacientes do sexo feminino, com idade média de 44+-8,8 anos, e todos infectados pelo *H. pylori*, sendo que no momento da avaliação receberam tratamento apropriado.

Técnicas



CIRURGIA DE CAPELLA

Figura 1

As razões para o comparecimento ao ambulatório foram queixas não específicas do trato gastrointestinal como náusea, vômitos ou intolerância a certos alimentos. Todos foram atendidos no Serviço de Endoscopia do Hospital das Clínicas da FMUSP e o consentimento informado foi obtido. Esse protocolo foi aprovado pelo Comitê Ético do Hospital das Clínicas.

1) Desenho experimental

Um estudo clínico prospectivo enfocando quatro tempos:

Momento 1: Recrutamento, consentimento informado, dados clínicos, agendamento do teste respiratório e endoscopia;

Momento 2: Teste respiratório após dieta apropriada;

Momento 3: Exame endoscópico, obtenção de amostras, pH medido e procedimentos apropriados para microbiologia e citoquinas;

Momento 4: Transcrição dos resultados e fechamento do caso

2) Métodos clínicos e laboratoriais

Questionário clínico: história geral e análise de dados médicos incluindo cirurgias e hospitalizações, condições imunológicas e prescrições utilizadas;

Dados nutricionais: peso, altura e IMC;

Queixas gastrointestinais: náusea, vômitos, intolerância alimentar, diarréia, má-absorção e obstrução intestinal;

Endoscopia:O enteroscópio de duplo balão (Fujinon EN-450P5/20, Fuji Photo Optical Co, Ltda, Omiya, Japão; diâmetro 8,5mm, comprimento 200 cm) foi utilizado coberto por overtube (TS-12140, Fuji Photo Optical Co, Ltda, Omiya, Japão; diâmetro externo de 12,2mm comprimento 145cm) – (figura 2). Utilizou-se a técnica de duplo balão pelo acesso oral e introdução até o estômago excluso (82,88). Os resultados endoscópicos foram objetivo de outro estudo foram incluídos somente os pacientes submetidos à avaliação completa da cavidade oral à câmara gástrica exclusa (Figuras 3-7).

ENTEROSCÓPIO DE DUPLO BALÃOR

***Fujinon EN-450P5/20*, Fuji Photo Optical Co., Ltd, Omiya, Japão**

ENDOSCÓPIO
Comprimento: 200cm
Diâmetro: 8,5mm

OVERTUBE
Comprimento: 140 cm
Diâmetro: 12mm

Figura 2

AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA DO ESTÔMAGO EXCLUSO NOS PACIENTES SUBMETIDOS A DERIVAÇÃO GASTRO-JEJUNAL EM Y DE ROUX PARA OBESIDADE MÓRBIDA

IMAGENS ENDOSCÓPICAS:acima esquerda:ÊNTERO-ÊNTERO ANASTOMOSE; abaixo esquerda: ÁREA DE METAPLASIA; acima direita: CONSTRICÇÃO ANELAR; abaixo direita: CICATRIZ CÁRDICA DO ESTÔMAGO EXCLUSO.

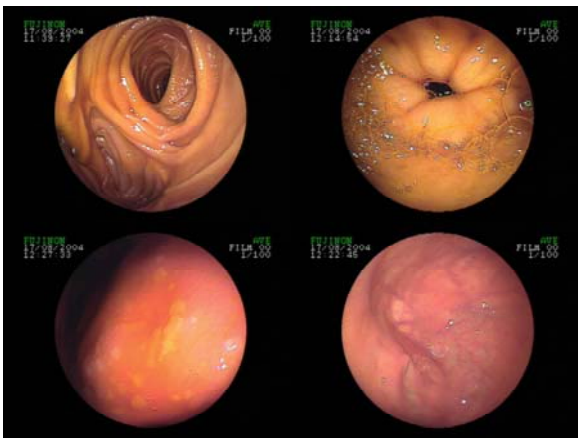


Figura 3

AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA DO ESTÔMAGO EXCLUSO NOS PACIENTES SUBMETIDOS A DERIVAÇÃO GASTRO-JEJUNAL EM Y DE ROUX PARA OBESIDADE MÓRBIDA

IMAGENS ENDOSCÓPICAS: acima esquerda: PILORO VISÃO RETRÓGRADA; abaixo esquerda: ATROFIA GÁSTRICA; acima direita: PILORO VISÃO ANTERÓGRADA; abaixo direita: EROSÃO COM HEMATINA

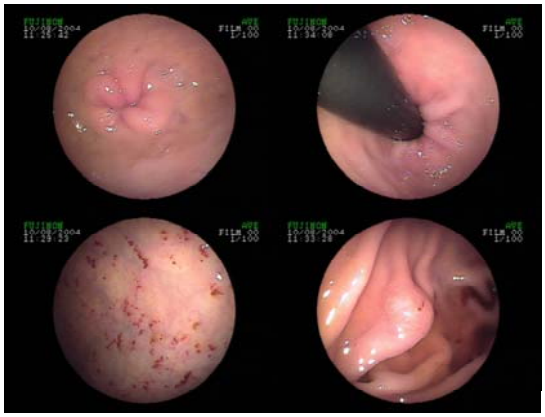


Figura 4

AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA DO ESTÔMAGO EXCLUSO NOS PACIENTES SUBMETIDOS A DERIVAÇÃO GASTRO-JEJUNAL EM Y DE ROUX PARA OBESIDADE MÓRBIDA

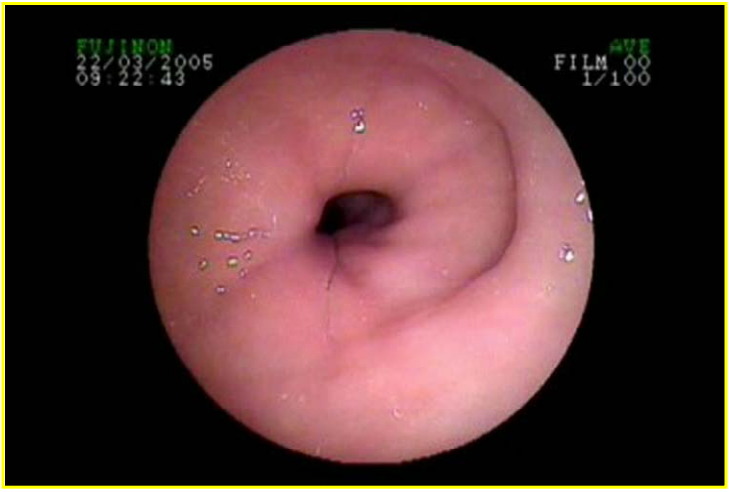


Figura 5

AVALIAÇÃO ENDOSCÓPICA DO ESTÔMAGO EXCLUSO NOS PACIENTES SUBMETIDOS A DERIVAÇÃO GASTRO-JEJUNAL EM Y DE ROUX PARA OBESIDADE MÓRBIDA IMAGEM PANORÂMICA DO ESTÔMAGO EXCLUSO.

Figura 6

Figura 7

Para obtenção de líquidos e secreções foram utilizados dois catéteres esterilizados, por óxido de etileno, de 260cm de comprimento, revestido de poliuretano sólido, com calibre interno de 1,35mm e calibre externo de 1,95mm, de fácil passagem pelo canal de trabalho do enteroscópio (2,2mm), com sua extremidade recoberta e protegida por silicone sólido estéril (Figura 8). Os catéteres foram exteriorizados e a proteção de silicone expelida, seguida da aspiração de conteúdo líquido em volume suficiente para cultura, primeiro no estômago excluso seguido da neo-câmara gástrica. Recorreu-se a veículo líquido para obtenção das amostras, mediante injeção de solução salina isotônica em pequeno volume.

Houve coleta do suco entérico nos mesmos locais de biópsias, sendo injetado 10 ml de soro fisiológico estéril e recolhido aproximadamente 2-3 ml, em frascos propícios (tubos estéreis e meio propício para agentes anaeróbios) que foram enviados para cultura.

As amostras do aspirado do estômago septado e, subseqüentemente, da micro-câmara gástrica, após injeção de 10ml de solução estéril (salina), eram mantidas no meio Cary-Blair em tubos esterilizados. Um novo catéter protegido foi utilizado para o reservatório gástrico proximal.

As biópsias foram colhidas em 2 localizações: bolsa gástrica remanescente (4cm abaixo

do cárdia em sua face posterior) e estômago diverticulizado (8cm do piloro em sua face posterior). Nos pacientes do grupo controle, as biópsias foram obtidas em localizações anatômicas correspondentes aos segmentos estudados nos pós-operados (grande curvatura do corpo gástrico e do antro gástrico) (Figura 9) .

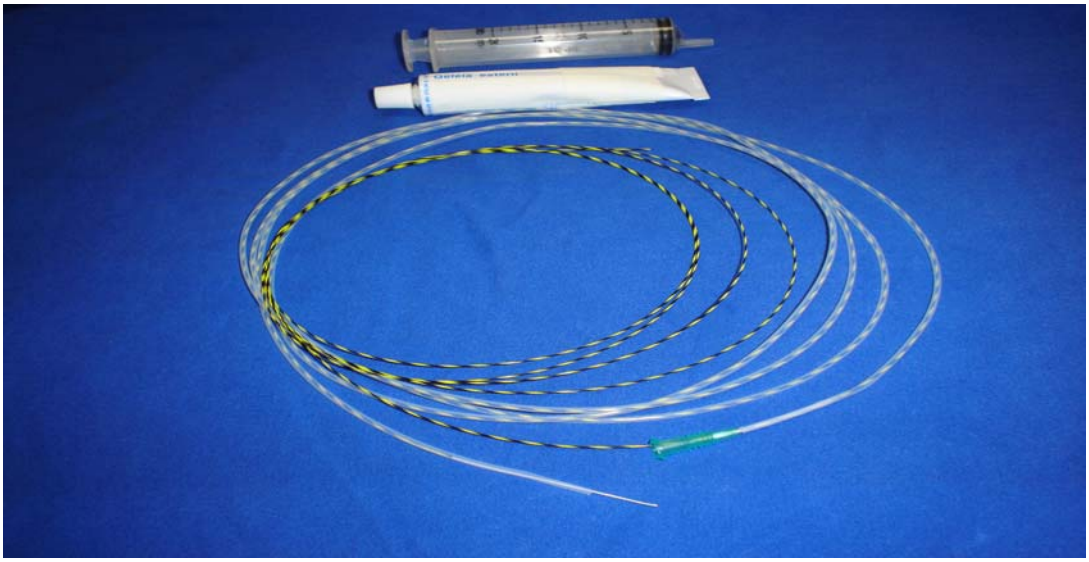


Figura 8

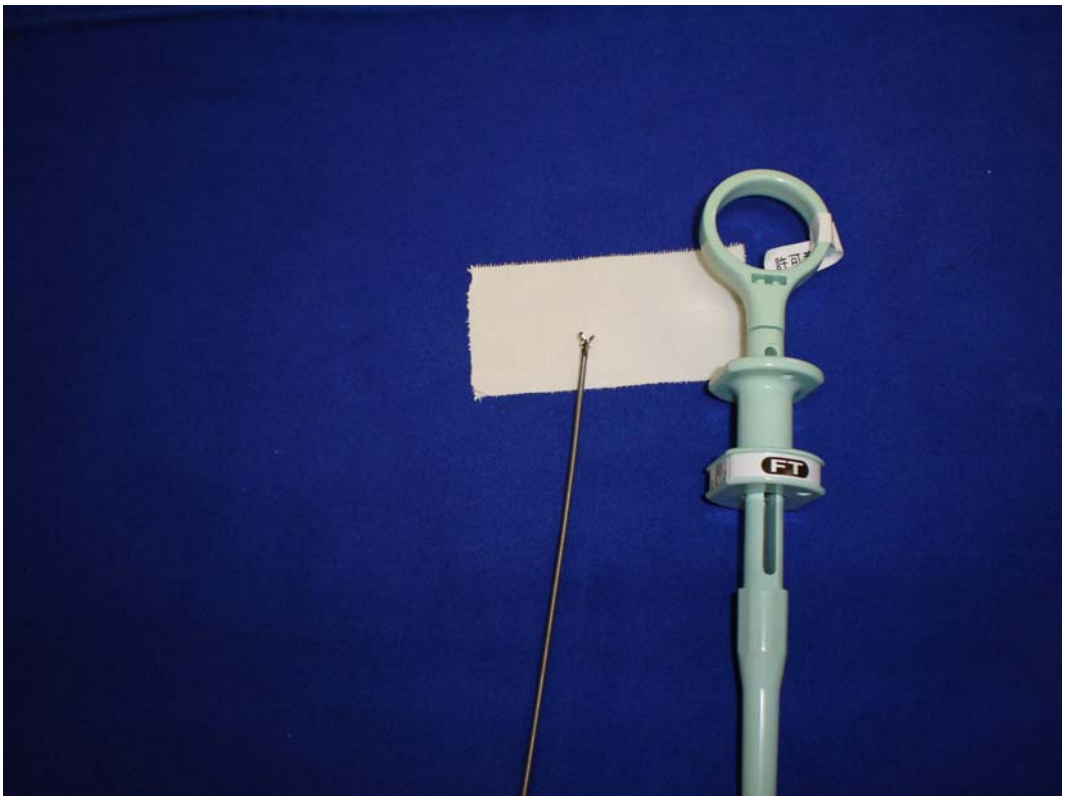


Figura 9

A avaliação das citoquinas nas amostras coletadas, pelo método ELISA, abrangeu processamento e dosagem de proteínas, TGF-BETA e TNF-ALFA(120).

As amostras foram prontamente acondicionadas e estocadas em refrigeração a –70 ° C para dosagem de TNF-alfa e TGF-beta, separando-as pela localização.(121,124)

Tempo necessário:

1- Incubar a placa coberta: uma noite (12 horas);
2- Lavar a placa e carregando as amostras e padrões: 15 minutos;
3- Incubar padrões: 60 minutos;
4- Lavar a placa e carregar o anticorpo bioativo;
5- Incubar anticorpos de interesse (bioinylated);
6- Lavar a placa e carregar a solução de streptavidin-HRP: 15 minutos;
7- Incubar a solução de streptavidin-HRP: 30 minutos;
8- Lavar a placa e carregar o TMB: 15 minutos;
9- Desenvolvimento de cores: 20-30 minutos;
10- Para a reação com ácido sulfúrico, ler a placa e analisar as informações: 10 minutos.

Total: 240-250 minutos.

Seqüência para otimização do método ELISA:

1-Análise da solução cruzada para selecionar as concentrações dos anticorpos:1dia

2-Seleção do catalisador para bloqueio e diluição:1dia

3-Examinar o efeito do plasma na seleção do catalisador

4-Para ELISA com incubação de longa duração, comparar com períodos mais curtos: 1 dia

Tempo total: 3-4 dias (passos devem ser repetidos para qualidade dos resultados).

3. MATÉRIAS

Protocolo básico do método ELISA:

- 96 placas/ microtítulos (Nunc Immunoplate, Neptune, NJ)
- Par de anticorpos anti-citoquinas (sistema R & D, Minneapolis, MN)

  anticorpos monoclonais para captura

  anticorpos policlonais
- Proteínas recombinantes-padrão de citoquinas
- Bloqueador de catalisador:

  a2% (w/v) plasma-albumina bovina (Sigma) em PBS, ph 7,4
- Diluição do catalisador:

  PBS com 0,05% (v/v) Tween 20 (Surfact TM Amps, 10% Tween 20; Pierce, Rockford, IL) e 2% (v/v) plasma/albumina bovina (Biocell, Carson, CA)
- Streptavidina-conjugada para carrear peroxidase (Jackson Immuno Research Laboratories, West Groove, PA) diluído a 1:20.000 em PBS com 0,1% ácido sufúrico e 0,005% Tween 20
- Ácido sulfúrico (Jt Baker, Phillipsburg, NJ) a 1,5 M .

Material utilizado para comparação de soluções tampão

- Blocker TM BLOTTO em TBS, (Pierce, Rockford, IL)
- Blocker TM Caseína em PBS, (Pierce)
- Superblock R Bloqueando Catalisador em PBS (Pierce)
- Plasma ou tecido de pacientes saudáveis da mesma espécie testada

Reagente preparado não-comercial

- TMB (Sigma)
- DMSO (Sigma)
- Acetato de sódio (Sigma, solução Ph 6 com 0,1M de ácido cítrico).
- 30% de peróxido de hidrogênio (Sigma)

TMB é diluído em DMSO para uma concentração final de 1%. Os 1%TMB é diluído a 1:100 com a solução de acetato de sódio. Imediatamente antes do uso, 30% de peróxido de hidrogênio (concentração final de 0,0048%, por exemplo 4

microlitros de peróxido de hidrogênio em 25ml da solução TMB) é acrescentado à solução de TMB.

Para dosagem rápida de interleuquinas

- Garrafa de lavagem com a solução lavatória
- TMB comercial (3,3', 5,5'-tetrametil-benzidina) (Genzyme Diagnostics, San Carlos, CA), misturando uma parte A para cada parte B

Equipamento especial

- Lavador de placas automático (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT)
- Agitador orbital
- Leitor de placas ELISA (Bio-Tek)
- Refrigerador a 4° C
- Pipetas de canais únicos e pipetas multi-canais com ponteiras estéreis

Detalhes do procedimento

Protocolo básico do método ELISA

- As placas de 96-casulos micro-títulos são cobertos por anticorpos comerciais, monoclonais, anti-citoquina (50micorlitros /casulo) diluído em PBS, pH 7,4. As placas são agitadas delicadamente para melhorar a distribuição da solução de anticorpos sobre o fundo de cada casulo e então incubadas por uma noite a 4° C.
- As placas são lavadas (5 lavagens, 250 micro-litros/casulo, 15 segundos /lavagem) utilizando um lavador automático de placas. Os demais passos são conduzidos à temperatura ambiente sob agitação. As soluções adicionadas à placa devem também corresponder à mesma temperatura ambiente. Para interromper focos de agrupamento não específico, uma solução bloqueadora é adicionada à placa (150 microlitros/casulo) e incubado por pelo menos 1 hora.
- Depois das lavagens como descrito acima, diluições das soluções padrões de citoquinas e amostras em diluição catalisadora são adicionadas à placa (50 microlitros/casulo) e incubadas por 1 hora.
- Após as placas serem lavadas, o anticorpo selado com biotina em diluição com catalisador é então adicionado (50 microlitros/casulo) e incubadas por 1hora.

- As placas são lavadas novamente e streptovidina conjugada para carrear peroxidase (SA-HRP) diluída a 1:20.000 em PBS com 0,1% de ácido bi-sulfúrico e 0,005% de Tween 20 (50 microlitros/casulo). As placas são incubadas por 30 minutos.
- Durante este período de incubação, um reagente colorimétrico pode ser preparado. TMB é diluído em DMSO para a concentração final de 1%. A solução a 1% de TMB é então diluída em 1:100 com uma solução de acetato de sódio a 0,1M (pH=6 com 0,1M de ácido cítrico). Imediatamente antes do uso, peróxido de hidrogênio a 30% (concentração final de 0,0048%) é adicionado à solução TMB. A solução deve permanecer no escuro até o momento do uso.
- Após os 30 minutos de incubação, as placas são lavadas e a solução de TMB (3,3', 5,5'-tetrametil-benzidina) é adicionada (100 microlitros/casulo). As placas permanecem no escuro durante o desenvolvimento das cores, geralmente 20-30 minutos. Para este protocolo básico, a solução TMB não comercial é preparada em laboratório e demonstra resultados excelentes com custos reduzidos.
- Sem a lavagem das placas, ácido sulfúrico a 1,5M é adicionado diretamente (100 microlitros/casulo) à solução TMB para interromper a reação de coloração. A absorbância é medida imediatamente em leitores biocinéticos de placas (Bio-Tek) em 465 e 590 nm.

Otimização do método ELISA para citoquinas

O protocolo básico ELISA é utilizado com variações numa série de tentativas para selecionar concentrações de anticorpos, escolhe-se um catalisador apropriado, reduzindo a interferência do plasma e avaliando o intervalo ideal para períodos de incubação.

Otimização das concentrações de anticorpos

- O método ELISA é realizado como esboço no protocolo básico exceto quando alterações são indicadas
- Os anticorpos de cobertura são adicionados à placa em uma série de diluições, incluindo a recomendada pela fonte de anticorpos e três diluições adicionais.

Estas diluições são carreadas através das fileiras da placa.

- Os padrões e anticorpos bioquelantes são diluídos em um catalisador de PBS com 0,05% (v/v) de plasma bovino. Plasma bovino(bezerro) como BSA é utilizado para prover mais matrizes complexas. A proteína recombinante padrão é adicionada a cada placa em diluições, representando um fundo, os limites inferior e superior da faixa daquela citoquina.
- Os anticorpos bioquelantes são então adicionados pelas colunas da placa em faixas de diluição, valores recomendados entre inferior e superior.
- Após o desenvolvimento das cores e medição da absorbância, as concentrações de anticorpos evidentes correspondem ao melhor sinal.

Efeito das soluções tampão

- Utilizando-se as concentrações ideais para ligação ou cobertura e anticorpos bioquelantes para citoquina determinada acima, o protocolo básico ELISA é seguido.
- O protocolo básico é modificado pelo uso de várias soluções tampão no mesmo protocolo. A solução originalmente utilizada neste laboratório foi plasma-albumina bovino a 2% (w/v) (De Forge e Remick, 1991) em PBS. Quando esta solução tampão é usada, a diluição catalisadora é PBS com 0,05% (v/v) Tween e plasma bovino a 2% (v/v). As comerciais podem ser comparadas. Quando um catalisador bloqueador é utilizado, uma diluição pode ser preparada de 1:10 de solução bloqueadora e catalisadora em PBS com 0,1% (v/v) de BSA e 0,05%, v/v Tween 20.

Efeito plasma

- Devido ao método ELISA ser praticado em amostras de plasma, padrões são desenhados a partir de plasma de voluntários humanos para produzir concentrações finais de plasma de 0%, 10% ou 50%.

Comparação do tempo de incubação

- Pares comerciais de anticorpos podem sem acompanhados por protocolos que recomendam incubação longa (2 horas) para dosagem de determinadas citoquinas pelo método ELISA, mas segundo protocolo básico são 1 ou 2 horas.

Uma diferença na preparação da amostra para dosagem de TNF-alfa foi um segundo processo de “wash out”, utilizando-se por uma segunda vez as anti-proteases, seguidas do tamponamento do Ph, conforme orientações preconizadas pelo fabricante.

- **Rotina microbiologia:**

A determinação quantitativa das bactérias aeróbicas mesófilas foi realizada através de diluições seriadas e semeadas em placas de ágar. Alíquotas de (0,1ml) foram semeadas em diluições seriadas (10^0 até 10^{-3}) e espalhados em placas de ágar suplementadas com hemina bovina e vitamina K, e incubação padrão a 35^0C por 48 horas. O número de colônias foi computado através de contagem óptica computadorizada.

O mesmo método foi utilizado para mesófilos anaeróbios, acrescentando método de anaerobiose (BBL GasPack Plus, Becton Dickinson, USA). Fixação para Gram e identificação microscópica dos tipos mais comuns foi também executada (Jones, Mandel)(146-147).

As séries de fungos e bolores (01ml e 0,1 ml) com inoculação em placas de ágar/dextrose/batata foi realizada e incubadas por 5 dias (77,00F) . O número de colônias foi estimado através de contadores computadorizados e resultados expressos como UFC/mL (unidades-formadoras-colônias)/ml (147,170-171).

- **Medição de pH:**

Uma pequena amostra do suco gástrico, sem muco ou outros resíduos, foi adicionada ao papel de Tornassol/ indicador de pH (Merck Kga A, Darmstadt, Germany), e pH estimado de acordo com escala visual (154-156).(Figura 10)

Figura 10

- **Teste respiratório:**

O teste respiratório de H_2 lactulose (Romagnuolo) (173-176) foi executado após ingestão em bolo de 20g de lactulose (Pentalac ®-lactulose) em 200ml de água e dados da expiração colhidos a cada 20 minutos a 2 horas. Um cromatógrafo de gases foi utilizado (Modelo Quintron 12i; Quintron Instruments, Milwakee, WI, EEUU) (Figura 11) e o teste foi considerado positivo quando o pico foi maior ou igual a 20ppm acima do basal. Pacientes foram instruídos a não ingerir carboidratos fermentáveis (pão, massas, cereais) e impedidos de fumar e realizar exercícios físicos durante as 24 horas pré-teste.

Figura 11

Métodos estatísticos:

Valores são apresentados como média +-SD. Paramétricos (Teste “t” de Student’s) como testes não paramétricos (Kruskall-Wallis) foram aplicados quando apropriados. Análise da Regressão linear (Pearson) correlacionados à contagem bacteriana, pH gástrico e teste respiratório também realizados. Valores de P inferiores a 0,05 foram considerados significantes. A análise estatística foi realizada pela aplicação do software de estatística SPSS 11.0 (SPSS Inc, 2002, Illinois, USA).

4. RESULTADOS

Os dados demográficos e nutricionais dos pacientes seguem na tabela 1. Tratava-se de um grupo homogêneo de pacientes em sua origem morbidamente obesos, os quais responderam apropriadamente à intervenção bariátrica, operados pela mesma equipe cirúrgica e reavaliados entre 3 e 11 anos. Em geral houve perda substancial de peso no início e algum ganho de peso muitos anos depois, com IMC atual dentro da classe de obesidade e raros obesos graves.Diarréia , má-absorção ou episódios freqüentes de pneumonia não foram identificados nesta série (tabela 1).

O grupo controle mostrou-se comparável aos pacientes no pré-operatório, antes da intervenção bariátrica (tabela 2)

Tabela 1: Características gerais da população

VARIÁVEIS	RESULTADOS	FAIXA
IDADE (anos)	42,2+/-9,9	21-26
SEXO	70,3% feminino	11/37
IMC Pré-operatório(kg/m2)	53,5+/-10,6	38,1-91,7
IMC atual(kg/m2)	32,6+/-7,8	20,7-54,9
Follow-up(anos)	7,3+/-1,4	4,5-11,0

Tabela 2: Características do grupo controle

VARIÁVEIS	RESULTADOS	FAIXA
IDADE (anos)	44+-8,8	30-58
SEXO	80% sexo feminino	08/10
IMC (kg/m2)	51,5+-5,0	41,64-62,7

Os exames bioquímicos foram claramente favorecidos pela cirurgia, no entanto sua normalização não esteve presente nesta avaliação porque houve tendência à recuperação parcial de peso no período pós-operatório tardio (tabela 3). Albumina sérica e contagem de linfócitos mostraram-se adequados e permaneceram estáveis, indicando boa condição nutricional. A hemoglobina reduziu-se discretamente, e houve queda perceptível nas contagens de glóbulos brancos e neutrófilos após a cirurgia, como

consequência da menor inflamação sistêmica decorrente da eliminação parcial do excesso de gordura corporal.

Tabela 3: Dados bioquímicos da população

VARIÁVEIS	PRÉ-OERATÓRIO	ATUAIS	CONTROLES
COLESTEROL (mg/dL)	196,7+/-30,5	181,8+/-27,4*	180,7+/-13,4**
TRIGLICÉRIDES (mg/dL)	140,6+/-57,2	91,5+/-33,4*	159,1+/-59,5**
HEMOGLOBINA (mg/dL)	13,2+/-0,9	12,3+/-1,5*	11,4+/-3,6
GLÓBULOS BRANCOS X103/mm3	7,5+/-1,7	6,1+/-1,7*	7,4+/-1,9
NEUTRÓFILOS X103/mm3	4,5+/-0,6	3,5+/-0,5*	4,3+/-0,7
LINFÓCITOS X 103/mm3	2,2+/-0,5	2,3+/-0,5	2,4+/-0,6
ALBUMINA (g/dL)	4,2+/-0,4	4,2+/-0,2	3,3+/-0,1

(*) $p<0.05$ em comparação com resultados pré-operatórios, mesmo grupo

(**) $p<0.05$ em comparação com resultados pré-operatórios, grupo diferente

Culturas tanto do estômago proximal e distal resultaram em achados positivos para várias categorias microbiológicas. Ocorreu predominância numérica na colonização bacteriana encontrada na micro-câmara gástrica, incluindo aeróbios e anaeróbios, entretanto, diferenças para fungos não foram averiguadas(tabela 4).

Tabela 4: Achados microbiológicos

CATEGORIA	EXCLUSO	FUNCIONAL	SIGNIFICÂNCIA
AERÓBIOS (UFC/mL)	53291+/-97766	198572+/-347791	P<0,05
ANAERÓBIOS (UFC/mL)	48196+/-93632	131540+/-116648	P<0,05
LEVEDURAS (UFC/mL)	402+/-956	747+/-1466	NS
BOLORES (UFC/mL)	124+/-610	74+/-158	NS

Dada à possibilidade que baixas contagens poderiam constituir mera contaminação, não verdadeiramente colonização, proporções representativas de fungos (>100UFC/ml) (147) como casos com colonização importante (> 10^5 UFC/ml) foram calculados na tabela 5 Em tais condições, a colonização bacteriana e em menor grau fúngica foi confirmada .

Os dois compartimentos, exceto os controles, apresentaram-se com altas contagens microbianas (> 10^5 UFC/ml).A investigação do *H. pylori* foi positiva em 16,2% dos casos pós-operados e 40% dos controles não operados.

Tabela 5: Distribuição de altas contagens dentro dos resultados de cultura

CATEGORIA	EXCLUSO	FUNCIONAL	SIGNIFICÂNCIA
AERÓBIOS (>100UFC/mL)	51,4%(19/37)	81,1%(30/37)	P<0,05
ANAERÓBIOS (>100UFC/mL)	32,4%(12/37)	81,1%(30/37)	P<0,01
LEVEDURAS (>10UFC/mL)	43,2%(16/37)	51,4%(19/37)	NS
BOLORES (>10UFC/mL)	16,2%(6/37)	32,4%(12/37)	NS

Análise qualitativa, não necessariamente em nível de gênero e espécie,foram conduzidas. Nenhuma diferença entre os dois reservatórios foi identificada (tabela 6). Gram positivos e negativos: cocobacilos, cocos e bacilos foram predominantes, com extrema raridade de bacilos Gram negativos (Entéricos).

Tabela 6: Morfologia dos principais culturas bacterianas *

CATEGORIA	EXCLUSO**	FUNCIONAL***	SIGNIFICÂNCIA
GRAM +COCOS	27,27%(18/66)	30,69%(31/101)	NS
GRAM+COCOBACILOS	25,75%(17/66)	33,66%(34/101)	NS
GRAM+BACILOS	19,69%(13/66)	23,76%(24/101)	NS
Micrococcus luteus	9,09%(6/66)	7,92%(8/101)	NS
Streptococcus sp	7,57%(5/66)	1,98%(2/101)	NS

Observação (*) mais de uma modalidade detectada

Outras isoladas(**): Lactobacilos 3/66; Gram (-) cocobacilos, Gram (-) bacilos, *Clostridium sp*, e *Diplococcus sp*, um de cada;

Outras isoladas (***): *Clostridium sp* e *Proteus sp*, um de cada;

A produção ácida da câmara gástrica distal manteve-se parcialmente conservada,

com grande porcentagem abaixo de pH 4. A secreção da câmara gástrica proximal permaneceu neutra, indicando notável supressão na produção ácida. Uma larga porcentagem da população resultou em positivo durante análise do teste respiratório H2/lactulose (Tabela 7).

Tabela 7: pH gástrico e teste respiratório

CATEGORIA	EXCLUSO	FUNCIONAL	SIGNIFICÂNCIA
pH GÁSTRICO	3,3+/-2,2	7,0+/-0,2	P<0,01

	POSITIVO	NEGATIVO
TESTE RESPIRATÓRIO	40,5%	59,5%

Concentrações de TNF-alfa e TGF-beta nas câmaras gástricas são descritas na tabela 8, junto aos resultados controles em corpo e antro. Valores do estômago excluso mostraram-se altos quando comparados às câmaras funcionais como nos pacientes não operados do grupo controle.

A concentração absoluta, na presença ou ausência de micróbios comuns não alcançou significância estatística (2,6+-1,8; 1,2+-1.1; 0,26+-0,24; 0,09+-0,06 contra 1,9+-3,4; 1,1+-0,8; 17+-0,13; 0,10+-0,08; NS) e o mesmo aconteceu com a infecção do *H. pylori* (2,0+-1,5; 1,1+-0,6; 0,22+-0,15; 0,11+-0,06 contra 1,6+-1,1; 1,2+-0,9; 0,12+-0,06; 0,07+-0,02, NS).

Análise de regressãolinear comparando contagem microbiológica com valores de pH nas duas câmaras, como resultados do teste respiratório, não obteve resultados expressivos. Números de colônias bacterianas na câmara distal e a proximal correlacionaram-se com valores de pH (r=0,245 e r=0,237, respectivamente, p=0,09),com tendência estatística, mas não significante (tabela7). Somente 5 pacientes (5/37, 13,5%) resultaram em teste positivo para *H. pylori*, e correlação estatística com pH ou teste respiratório não puderam ser demonstradas.

Tabela 8: Concentrações de citoquinas na mucosa

VARIÁVEIS	**PACIENTES (N=37)**		**CONTROLES (N=10)**	
	CÂMARA EXCLUSA	**ESTÔMAGO FUNCIONAL**	**CORPO**	**ANTRO**
TGF-beta (pg/mg proteína)	**24,2+/-12,8**	**12,5+/-9,3***	**10,0+/-6,3***	**15,6+/-17,5***
TNF-alfa (pg/mg proteína)	**2,1+/-1,9**	**0,1+/-0,7***	**1,3+/-1,2***	**1,3+/-1,5***

(*) $p<0.05$ em comparação com a câmara exclusa nos pacientes operados;

A análise de regressão linear revelou um número de correlações entre citoquinas e dados gerais dos pacientes, como IMC, sexo e concentração de hemoglobina. Correlação positiva entre diferentes citoquinas e câmaras poderiam ser identificadas nos pacientes operados, com alta significância para valores de TGF-beta e TNF-alfa no estômago excluso. Ainda mais com sinergismo mostrado para liberação das duas citoquinas em regiões homólogas do estômago controle. (Tabela 9)

Tabela 9: Correlações gerais das citoquinas

	DADOS OPERADOS		
Citoquinas	**Variáveis**	**r (Pearson)**	**Significância**
TNF-alfa estômago excluso	Hemoglobina	-0.341	p= 0.03
	TGF-beta estômago distal	0.595	p= 0.0001
	TGF-beta bolsa proximal	0.431	p= 0.08
TNF-alfa bolsa proximal	Triglicérides	-0.331	p= 0.03
TGF-beta estômago distal	IMC	0.396	p= 0.01
	Sexo	0.351	p= 0.02
	TGF-beta bolsa proximal	0.392	p= 0.01
TGF-beta bolsa proximal	Hemoglobina	-0.452	p= 0.005
	Controles		
TNF-alfa corpo	Hemoglobina	-0.666	p= 0.04
	Albumina sérica	-0.619	p= 0.05
	TGF-beta corpo	0.716	p= 0.02
TNF-alfa antro	TGF-beta antro	0.958	p=0.000
TGF-beta corpo	Hemoglobina	-0.6l4	p= 0.05

Análise de Pearson identificou notáveis resultados para contaminação microbiana convencional, de acordo com TGF-beta na câmara distal, local de correlação com o *H. pylori*. (Tabela 10)

Tabela 10: Correlações entre citoquinas, colonização bacteriana e infecção pelo *H. pylori*

	Dados pós-operados		
Citoquinas	**Variáveis**	**r (Pearson)**	**Significância**
TNF-alfa estômago distal	***H.pylori***	**0.514**	**p= 0.000**
TNF-alfa bolsa proximal	***H.pylori***	**0.484**	**p= 0.000**
TGF beta estômago distal	**Aeróbios bolsa proximal**	**0.421**	**p= 0.008**
	Anaeróbios bolsa proximal	**0.334**	**p= 0.03**
	Bolores bolsa proximal	**0.919**	**p= 0.000**
	Leveduras bolsa proximal	**0.655**	**p= 0.000**
TGF-beta bolsa proximal	***H.pylori***	**0.760**	**p= 0.000**
	Controles		
TNF-alfa antro	***H.pylori***	**0.369**	**NS**
TGF-beta antro	***H.pylori***	**0.413**	**NS**

5. DISCUSSÃO

A cavidade oral e o trato digestivo alto não são estéreis e um número pequeno de organismos viáveis lá presente poderia migrar para o estômago proximal. Além do mais, comensais e patógenos continuamente repovoam a flora intestinal alta e baixa.

Contaminantes do trânsito são incomuns no estômago excluso, entretanto, alguns germes poderiam ser introduzidos mecanicamente através do aparelho e, da mesma forma na bolsa proximal, por ocasião do refluxo jejunal.

Nenhum padrão para contagem bacteriana no líquido gástrico foi padronizado, tanto nos pacientes bariátricos como em outros contextos. Por esta razão, os achados numéricos de colonização neste estudo, assim como em outros, são classificadas como leves, moderados ou intensos.

A microbiota intestinal excessiva relaciona-se a uma síndrome clássica que pode ser acompanhada de perda ponderal, diarréia, má-absorção, translocação bacteriana e alteração no metabolismo dos ácidos biliares(159). Tal fato está correlacionada à proliferação, principalmente no intestino delgado**,** com predominância de bactérias anaeróbicas, as quais, usualmente fazem parte da flora colônica.(153)

Distúrbios que resultam em hipocloridria(154), por exemplo nas gastrectomias parcial e total, favorecem o supercrescimento bacteriano. Sabe-se que a infecção do *H. pylori* intensa induz gastrite enantematosa e mesmo gastrite atrófica com anemia perniciosa. Igualmente uso de drogas que reduzam a secreção ácida gástrica(160), são mecanismos predisponentes**.** A síndrome pode ser detectada através de culturas diretas de fluidos do intestino delgado ($>10^5$ UFC/mL) ou através de teste respiratório lactulose-hidrogênio postivo(174-176).

A bolsa da pequena curvatura remanescente no alto do estômago após a gastroplastia, é substancialmente menor que o órgão normal e, obviamente, poderia produzir menos ácido clorídrico. Entretanto, o pH gástrico raramente foi descrito como alterado neste contexto e poucas anormalidades são documentadas na literatura. Também, no estômago excluso, alterações incipientes foram confirmadas por Mason et al.em 1992, com moderada redução da produção ácida combinada à diminuição dos níveis de gastrina (31-32).

A obesidade por si só ou a perda ponderal nunca foram incriminadas. Em tempos recentes, há especulação sobre alterações qualitativas na flora intestinal dos não operados, dentro do contexto de acúmulo de gordura, como um potencial gatilho do

ganho de peso, conforme assinalado por Ley et al. 2005 (151) e Fain et al. 2006(146). Na verdade, nos pacientes obesos com anatomia visceral preservada, diferenças numéricas significativas em relação aos controles nunca foram confirmadas.(135,161)

O contingente da microflora intestinal consiste em torno de 10^{15} bactérias. Sob condições fisiológicas, elas residem predominantemente no trato gastrointestinal baixo. Como demonstrado pelo estudo, supercrescimento bacteriano no trato digestivo acompanhou o modelo gram-positivo e, é de maneira provável, resultado de danos prévios na barreira ácida, particularmente, com pH>4 (gástrico). Sabe-se que há contingente grande de bacilos gram-negativos (bactérias entéricas), uma conseqüência da falência do clareamento intestinal**,** associado à estase ou refluxo, são identificadas em outras entidades**,** nas quais desarranjos imunológicos e outros transtornos são relacionados**.** **(**143,148)

As causas da falência no clareamento intestinal são: peristaltismo intestinal reduzido ou acúmulo persistente de fluidos e refluxo acionado por qualquer doença ou terapia. Neste caso, distorções anatômicas (cirurgia gastrointestinal, remoção da válvula íleo-cecal, divertículos intestinais, alças cegas e fistulas) poderiam contribuir para origem desta alteração. Responsabilidades combinadas entre clareamento ou esvaziamento intestinal e barreira ácido-gástrica podem ocorrer, geralmente com maior colonização de bacilos gram-negativos.(154,159)

Neste estudo, a hipótese de etiologia mista poderia não ser absurda, dada à existência de alto pH gástrico e alça gastrointestinal parcialmente cega. No entanto, agentes gram-positivos foram os contaminantes inquestionáveis em ambos meios gástricos. Somados às implicações fisiopatológicas primárias da produção reduzida de suco gástrico, de acordo com a queda do pH na câmara proximal **e com** uma intensidade menor na distal, fica confirmada a hipocloridria como mecanismo precipitante.

O teste respiratório para síndrome do supercrescimento bacteriano reflete o rendimento do eco-sistema em todo intestino proximal (172). As culturas microbiológicas atuais lidaram somente com o ambiente gástrico (151). Desta forma, estudos adicionais são recomendados com o interesse de definir um expectro mais amplo da microbiota intestinal após a gastroplastia. Tal discrepância poderia explicar a falta de maior significância estatística na correlação entre pH gástrico, contagem bacteriana e teste respiratório. Como o número de infecções pelo *H. pylori* foi modesto nesta série**,** a análise estatística falhou em encontrar correlações relevantes com esta condição.

Diarréia e má-absorção não foram notadas neste grupo e, raramente são encontrados na prática clínica, mesmo após anos da gastroplastia. Uma das explicações da ausência de repercussões clínicas mais expressivas desta proliferação microbiana reside no número relativamente reduzido de colonizações maciças (>10^5UFC/ml).

Como neste modelo**,** estes desarranjos fisiológicos foram moderados**,** não eram esperadas outras conseqüências gerais do supercrescimento bacteriano. De fato, observa-se ausência de quadros de pneumonia ou infecções sistêmicas. (155)

Em resumo, esta investigação sugere um maior comprometimento da atividade exócrina gástrica no pós-operatório tardio da gastroplastia, notavelmente na micro-câmara gástrica, diferenciando do que se suspeitava até então. Apesar de clinicamente bem tolerada, a supressão ácida a longo prazo, poderá ser acompanhada por repercussões locais, regionais e sistêmicos.

A presente investigação reforça as vantagens aceitas pela gastroplastia, no sentido de proteção contra a doença ácido-péptica. (31,32). Úlcera marginal(51), sangramentos e mesmo perfurações não são desconhecidas no pós-operatório imediato, todavia inexistiram nesta série. Na alça proximal isto tende a acontecer, porém sempre no pós-operatório precoce, quando a secreção ácida com certeza, ainda não está reduzida**.** Complicações tardias são raras e podem mais facilmente ser explicadas no caso do estômago excluso, onde a produção ácida não é prejudicada (94-95).

Neste mesmo contexto, uma atenção maior deveria dirigir-se à absorção de ferro e anemia, à luz do meio pobre em ácido, na região do trato gastrointestinal proximal do duodeno transposto ou distante. Também, face a uma eventual ocorrência de refluxo gastroesofágico no período pós-operatório tardio, o risco de pH alcalino das secreções é muito alto e deve representar um desafio terapêutico, necessitando mais que inibidores da bomba de prótons (160).

Regionalmente, como já comentado, as preocupações deveriam centralizar-se no pH da câmara gástrica e supercrescimento bacteriano. Todos enfermos apresentaram-se oligossintomáticos ou assintomáticos nesta série, mas aqueles achados denotam uma fonte potencial de desarranjos nutricionais e queixas gastrointestinais.(155)

O perigo da translocação bacteriana, pneumonia aspirativa e outros sintomas sistêmicos parece remoto. Entretanto, a degeneração da mucosa gástrica merece uma ressalva. Estudos experimentais em animais (92) demostraram que um meio de baixa acidez predispõe à inflamação crônica com metaplasia intestinal e outras lesões pré-malignas. Tal problema já foi observado em alguns pacientes bariátricos deste serviço,

particularmente no estômago distal, onde o refluxo biliar pode contribuir com o processo inflamatório.(63)

O acúmulo de gordura e adipócitos é responsável pelo processo inflamatório sistêmico dos obesos**,** modulado por citoquinas pró-inflamatórias. Dentre elas, o TNF-alfa está relacionado com doenças cárdio-vasculares devido à lesão endotelial e aterosclerose, aumento do colesterol total representado pelo LDL (Low Density Lipoprotein) e a resistência à insulina. A síndrome metabólica descrita pela literatura é composta por estes elementos. As dosagens elevadas de TNF-alfa sérica nas síndromes inflamatórias crônicas (165) incluindo a obesidade, já é conhecida, mas seus efeitos locais não estão esclarecidos.

A literatura descreve aumento nos índices de TGF-beta em ratos obesos, associado às elevações de COX1 (144), confirmando a relação de modulação inflamatória destas proteínas nas doenças crônicas**,** embora seus efeitos sistêmicos nem sempre sejam positivos**.**

Estudos direcionam ao bloqueio do estímulo identificado na origem das doenças inflamatórias crônicas e obesidade, através da redução dos componentes da superfamília do TGF-beta, principalmente a miostatina e das adipoquinas, adipócitos estimulantes. O efeito bloqueador é obtido tanto através de medicamentos inibidores do TGF-beta 1, como na redução do estímulo dos adipócitos na produção de TNF-alfa e a síndrome metabólica. A redução do peso, com diminuição dos parâmetros de atividade dos adipócitos é conhecida forma de reduzir os efeitos deletérios do TNF-alfa.(166-169)

Contrastando com estas informações sobre a ação geral das citoquinas nos obesos, as investigações sobre seu papel na mucosa gástrica são comparativamente escassas**.** É provável que a principal fonte de citoquinas na mucosa gastrointestinal não seja o tecido visceral, mas o infiltrado de macrófagos e outras células mononucleares (129-136). Há evidências fortes para se acreditar que tais células somente são ativadas como resposta à estimulação específica, subsequentemente desenvolvendo um papel dominante na fisiopatologia local. (125-128).

O TNF-alfa é um dos elementos centrais da resposta linfocitária Th1, e seu potencial lesivo local e sistêmico, como visto, foi repetidas vezes demonstrado em conexão com a obesidade, infecções, alergia, artrites e distúrbios da imunidade (116). Dentro do sistema gastrointestinal, a Doença de Crohn, colite ulcerativa e a diarréia associada ao *HIV* são problemas divulgados e mediados por citoquinas.(113-116)

A atividade local Th1 está relacionada a ulcerações gástricas desencadeadas pelo *H. pylori* ,(24,58) enquanto na doença não ulcerosa, estabeleceu-se uma associação com a secreção de citoquinas tipo Th 2 (128).

A importância do TGF-beta para cicatrização de ferimentos cutâneo-mucosos é conhecida no ambiente médico e investigações recentes indicam também bons resultados clínicos em ulcerações gástricas. Pacientes com úlceras gástricas curadas denotam expressão abundante de TGF beta e seus receptores, sendo que a perda destes elementos determina cicatrização pobre 149-152.

A colonização bacteriana ou por fungos e, sobretudo, pelos aeróbios e anaeróbios habituais, não recebeu grande ênfase da literatura das citoquinas, mas deve lesar a mucosa gástrica através da via de liberação de citoquinas Th 1, as quais criam uma interface com as secreções gástricas exócrinas e endócrinas 142 .

A síntese citoquínica Th1 durante a infecção do *H.pylori* é usualmente notável e correlacionado aos resultados esperados de TNF-alfa, como demonstrados em crianças 77 e adultos. 78 A super-expressão de TGF-beta foi bem menos identificada**,** provavelmente como parte da resposta anti-inflamatória defensiva da mucosa lesada. Os achados descritos na tabela 5 apoiam a hipótese de que a colonização gástrica pela flora convencional de bactérias e fungos não está isenta do impacto daquelas citoquinas**,** tanto no estômago proximal como no distal. Em que pese o fato de que diferenças absolutas na expressão de citoquinas com a colonização ou não pelo *H. pylori* não se tornou óbvia, as associações foram altamente sugestivas pelos resultados da análise de Pearson.

Quando aquelas variáveis foram comparadas aos resultados demográficos e bioquímicos, outras ligações tornaram-se evidentes, salientando sexo 25, idade e marcadores do estado nutricional, como níveis de albumina e IMC 26. Por razões obscuras, a correlação com hemoglobina mostrou-se negativa. Inter-relações entre as citoquinas locais em diferentes localizações gástricas foram outro achado, semelhantemente a outras publicações. 23, 27.

Apesar da citoquina TGF-beta estar relacionada à resposta Th3 e à formação de células T-reguladoras, não ao processo Th1, pode ser desencadeada por macrófagos analogamente ao TNF-alfa, como parte da cascata imume agressão-defesa, justificando a associação 129-145.

Este estudo caracterizou, pela primeira vez , produção aberrante desses importantes mediadores biológicos, durante um período tardio de follow-up após

intervenção bariátrica, possivelmente estimulado pela presença do *H. pylori* em concomitância ao super-crescimento bacteriano convencional.

Em síntese, estes achados sugerem um papel evidente de inflamação crônica gástrica após a gastroplastia redutora, da mesma forma induzida pela invasão bacteriana oportunista ou incidental. Condizente com esta condição, nosso grupo presenciou gastrites, em graus diferentes de intensidade e extensão nos pacientes examinados por endoscopia no período pós-operatório tardio, mais notavelmente no reservatório excluso, local onde o refluxo biliar e a estase poderiam ser co-fatores para maior agressão pelas citoquinas.[10, 11]

O refluxo biliar promove retorno de conteúdo entérico e bactérias, enquanto que a estase favorece a proliferação bacteriana. Diferentemente da câmara exclusa, a neo-câmara gástrica tem o conteúdo constantemente carreado pela secreção oral e alimentos. Não há informações específicas quanto ao comprometimento da capacidade de esvaziamento do estômago excluso, apesar de algumas impressões do ponto de vista técnico e anatômico apóie o contrário.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos adicionais são necessários para esclarecer a prevalência e a história natural do quadro microbiano e imuno-inflamatório aqui caracterizado. A participação destes e de outras citoquinas em vias intracelulares promovendo potencialmente alterações de fenótipo e genótipo merecem atenção, enfocando por exemplo a expressão de RNAm e transdução do sinal i na diferenciação e proliferação celular [113-128,165-169] .

Opções terapêuticas não deveriam ser esquecidas, a despeito da virtual ausência de sintomas e do bom estado geral da população estudada**,** tanto voltadas à infecção pelo *H. pylori* como ao supercrescimento bacteriano, pois ambos são sensíveis a antibióticos apropriados. A prevenção química da infecção pelo *H.pylori* com o objetivo de abortar o surgimento de um câncer, já foi proposta anteriormente, [76] e apesar de que índices não particularmente notáveis de infecção foram registrados nesta série, sua erradicação é obrigatória. Um consenso similar sobre efeitos deletérios do supercrescimento bacteriano na mucosa gástrica ainda não existe. Certamente, a presença destes germes não alcança o nível de classe I da carcinogênese [72-75], entretanto, a monitorização a longo prazo se faz necessária.

7. CONCLUSÃO

- Colonizações freqüentes nas câmaras gástricas foram identificadas;
- Aeróbios, anaeróbios e fungos foram representados em ambas situações;
- O pH gástrico como a contagem bacteriana foi maior no estômago funcional, porém se elevou em ambas as câmaras;
- Produção aumentada de TNF-alfa em ambas bolsas gástricas foi detectada;
- TGF-beta também destacou-se nas mesmas circunstâncias;
- A análise de regressão linear mostrou correlação positiva entre as citoquinas e a invasão microbiana pelo *H.pylori* e germes não específicos ;
- O teste respiratório foi positivo em 40,5% dos pacientes; Manifestações clínicas como diarréia, má-absorção ou pneumonia não foram demonstradas;
- No seu conjunto, estes achados configuram uma síndrome de hipocloridria, agressão microbiana e citoquínica da mucosa e super-crescimento bacteriano no pós-operatório tardio da cirurgia bariátrica tipo Capella.

8. REFERÊNCIAS

1)Perusse L. Genetics of Human obesity: results from genetic epidemiology sudies. **Ann Endocrinol** 2000; 61(6): 24-30.

2)Perusse L, Bouchard C. Gene-diet interactions in obesity. **Ann J Nutr** 2000; 72(5): 1285s-1290s.

3)Lissner L, Heitmann BL. Dietary fat and obesity: evidence from epidemiology. **Eur J Clin Nutr** 1995; (49): 79-90.

4)Seidell JC, Flegal KM. Assesing obesity: classification and epidemiology**. Br Med Bull** 1997; 53(2):238-252.

5)Zagar AH, Masoodi SR, Laway BA er al. Prevalence of obesity in adults- An epidemiological study from Kashimir Valley of Indian Subcontinent. **JAPI 2000**; 48(12): 1170-1174.

6)Sorensen TI. The changing lifestyle in the world. Body weight and what else? **Diabetes Care** 2000; 23(2): B1-4**.**

7)Hesecker H, Schimid [a] Epidemiology of obesity. **Ther Umsch 2000**; 22(2): 261-274.

8)Deitel M. The surgeon-general's call to action to prevent an increase in overweight and obesity. **Obes Surg** 2002; 12:3-4.

9)Thirlby RC, Randall J. A Genetic "Obesity Risk Index" for patients with morbid obesity. **Obes Surg** 2002; 12: 25-29.

10)Bray GA, Tartaglia LA. Medical strategies in the treatment of obesity. **Nature** 404:672-7, 2000.

11)Wadden TA. Characteristics of successful weight loss maintainers. In Allison DB, Pi-Suyner FX (eds): Obesity Treatment: Establishing goals, improving outcomes, and reviewing the Research Agenda. **New York, Plenum Press** 103-111, 1995.

12)Drenick EJ, Selteer F, Johnson DG. Excessive mortality and causes of death in morbidly obese men. **JAMA** 243: 443-445, 1980.

13) National Institutes of Health: Implications of obesity. National Institutes of Health consensus development conference statement. **Ann Intern Med** 103:1073-1077,1985.

14)National Institutes of Health: Implications of obesity. National Institutes of Health consensus development conference statement. **Ann Intern Med** 103:147-151,1985.

15)National Institutes of Health: Implications of obesity. National Institutes of Health consensus development conference statement. Gastrointestinal surgery for severe obesity. **Am J Clin Nutr** 55: 615s-619s, 1992**.**

16)I.F.S.O. Statement on patient selectiona for surgery. **Obes Surg** 7:41, 1997.

17) Martin LF, Hunter SM, Lauve RM, O'Leary JP: Severe obesity:Expensive to society, frustrating to treat, but important to confront. **South Med J** 88:895-901,1995.

18) Colditz GAL: Economic costs of obesity. **Am J Clin Nutr** 55(Suppl 2):503S-507S,1992

19) McGinnis JM, Foege WH: Actual causes of death in the United States**. J Amer Med Assoc** 270:2207-2214, 1993.

20) Stunkard AS, Wadden TA:Psychological aspects of severe obesity. **Am J Clin Nutr** 55(Suppl2):524S-532S,1992

21) Martin LF: The biopsychological characteristics of people seeking treatment for obesity.**Obes Surg** 9:235-243,1999

22) Wooley SC, Garner DM: Dietary treatments for obesity are ineffective. **Brit Med J** 309:655-656,1994

23)Silva MM, Seragine AC, Matsuoka VF, Silva AR, Reimão R, Faintuch J, Garrido Jr AB. Sleep aberrations in bariatric surgery candidates. **Obes Surg** 12:487,2002

24)Mason EE. Gastric surgery for morbid obesity. **Surg Clin North Ame**72:501-513, 1992.

25) Smith SC, Goodm Mason EE: Gastric surgery for morbid obesity. **Surg Clin North Am** 72:501-513,1992.

an GN, Edwards CB: Roux-en-Y gastric bypass.A 7-year retrospective review of 3855 patients. **Obes Surg** 5:314-318,1995

26) Forsell P, Hellers G: The Swedish adjustable gastric banding (SAGB) for morbid obesity:9- year experience and a 4-year follow-up of patients operated with a new adjustable band.**Obes Surg** 7:345-351,1997

27) Baltasar A, Bou R, Arlandis F, Martinez R, Serra C, Bengochea M, Miro J:Vertical banded gastroplasty at more than 5 years.**Obes Surg** 8:29-34,1998

28)Faintuch J, Rudner MA, Machado PLRC, Matsuda M, Garrido Jr AB, Gama-Rodrigues JJ. Influence of bariatric surgery on comorbidities and complications. **Obes Surg** 12:486,2002

29)Faintuch J, Machado PLRC, Rudner MA, Matsuda M, Garrido Jr AB, Gama-Rodrigues JJ. Quality of life after bariatric intervention. **Obes Surg** 12:487,2002.

30) Miller AD, Smith KM. Medication and nutrient administration considerations after bariatric surgery.**Am J Health Syst Pharm** 2006; 63: 1852-1857

31) Mason EE, Munns JR, Kealey GP, Wangler R, Clarke WR, Cheng HF, Printen KJ. Effect of gastric bypass on gastric secretion. **Amer J Surg** 1976; 131: 162-168

32) Mason EE, Munns JR, Kealey GP, Wangler R, Clarke WR, Cheng HF, Printen KJ. Effect of gastric bypass on gastric secretion. 1977. **Surg Obes Relat Dis** 2005; 1: 155-160

33)Dolan K, Hatzifotis M, Newbury L, Lowe N, Fielding G.A clinical and nutritional comparison of biliopancreatic diversion with and without duodenal switch.**Ann Surg**. 2004 Jul;240(1):51-6.

34)Christou NV, Look D, Maclean LDWeight gain after short- and long-limb gastric bypass in patients followed for longer than 10 years.**Ann Surg**. 2006 Nov;244(5):734-40.

35)Capella RF, Capella JF, Mandac H. Vertical banded gastroplasty- Gastric bypass: prliminary report. **Obes Surg1**: 389, 1991.

36)Fobi MAL, Lee H, Flemming A. The surgical techinique of the banded Roux en Y gastric bypass. **J Obesity Weight** Reg 8 (2): 99,1989.

37)Fobi MAL, Lee H, Holness R, Cabinda D. Gastric bypass operation for obesity**.** **World J Surg** 22: 925-935, 1998.

38)Cowan GSM Jr, Buffington CK, Wanatsu S. Long versus short limb Roux Procedures. Early results in a prospective randomized study of metabolic nutricional and anthropometric outcomes. **Obes Surg** 6: 305-306, 1996.

39)Capella RF, Capella JF. The weight reduction operation choice: vertical banded gastroplasty or gastric bypass. **Am J Surg** 171: 74-9, 1996**.**

40)Leifsson BG, Gislason HGLaparoscopic Roux-en-Y gastric bypass with 2-metre long biliopancreatic limb for morbid obesity: technique and experience with the first 150 patients.**Obes Surg**. 2005 Jan;15(1):35-42.

41)Brolin RE.Long limb Roux en Y gastric bypass revisited.**Surg Clin North Am.** 2005 Aug;85(4):807-17, vii. Review.

42)Fobi MA, Lee H, Felahy B, Che K, Ako P, Fobi N.Choosing an operation for weight control, and the transected banded gastric bypass.**Obes Surg**. 2005 Jan;15(1):114-21. Review.

43)Leifsson BG, Gislason HG.Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass with 2-metre long biliopancreatic limb for morbid obesity: technique and experience with the first 150 patients.**Obes Surg**. 2005 Jan;15(1):35-42.

44)Higa KD, Boone KB, Ho T. Laparoscopic Roux en Y gstric bypass for morbid obesity: technique and preliminary results of our first 400 patients**. Arch Surg** 135: 1029, 2000. 48

45)Nguyen NT, Ho HT, Palmer S. A comparasion of laparoscopic versus open gastric bypass for morvid obesity**. J Amer Coll Surg** 191: 149, 2000.

46)Schauer PR, Irkramuddin S, Gourash W. Outcomes after laparoscopic Roux-em-Y gastric bypass for morbid obesity. **Ann Surg** 232: 515-529, 2000.

47)Wittgrove AC, Clark GW. Laparoscopic gastric bypass, Roux-en-Y technique and results in 75 patients with 3-30 months follow-up. **Obes Surg** 6: 500-504, 1996.

48)Inabnet WB, Quinn T, Gagner M, Urban M, Pomp A.Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass in patients with BMI <50: a prospective randomized trial comparing short and long limb lengths.**Obes Surg**. 2005 Jan;15(1):51-7.

49)Doherty C, Maher JW, Heitshusen DS: Prospective investigation of complications, reoperations and sustained weight loss with an adjustable gastric banding device for treatment of morbid obesity. **J Gastrointest Surg** 2:102-108,1998.

50)Gil SZ, Faintuch J, Matsuda M, Garrido Jr AB, Silva MM, Gama-Rodrigues JJ. Early and late complications after gastroplasty with bypass. **Obes Surg** 12:486,2002

51)Sapala JA, Wood MH, Sapala MA, Flake Jr, TM. Marginal ulcer after gastric bypass: A prospective 3 year study of 173 patients. **Obes Surg** 8: 505-516, 1998

52)Schauer PR, Ikramuddin S, Gourash W, Rowanathan R, Luketich J. Outcomes after laparoscopic Roux en Y gastric bypass for morbid obesity. **Ann Surg** 232:515-529, 2000

53)Faintuch J, Gil SZ, Ribeiro Jr N, Garrido Jr AB, Gama-Rodrigues JJ. Nutritional deficiencies after gastric bypass for morbid obesity. **Clin Nutr 21(Suppl** 1):68, 2002

54)Chaves LCL, Faintuch J, Kahwage S, Alencar FA. Vitamin B1-related neurologic problems in weight-losing morbidly obese patients. **Clin Nutr 21(Suppl** 1):18, 2002

55)Pope GD, Goodney PP, Burchard KW, Proia RR, Olafsson A, Lacy BE, Burrows LJ. Peptic ulcer/stricture after gastric bypass: a comparison of technique and acid suppression variables. **Obes Surg**. 2002 Feb;12(1):30-3.

56)Bloomberg RD, Fleishman A, Nalle JE, Herron DM, Kini S.Nutritional deficiencies following bariatric surgery: what have we learned?**Obes Surg**. 2005 Feb;15(2):145-54. Review.

57)Sundbom M, Mardh E, Mardh S, Ohrvall M, Gustavsson S.Reduction in serum pepsinogen I after Roux-en-Y gastric bypass.**J Gastrointest Surg**. 2003 May-Jun;7(4):529-35.

58)Greco M, De Micheli E, Konardo A, Multifactorial hepatopathy in a patient with biliopancreatic diversion. Ann Ital Med Int 2003; 18: 99-103

59)Michielson D, Van Hee R, Hendrickx L. Complications of Biliopancreatic Diversion Surgery as Proposed by Scopinaro in the Treatment of Morbid Obesity.**Obes Surg** 1996; 6: 416- 420

60)Ley RE, Backhed F,Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI Obesity alters gut microbial ecology.**Proc Natl Acad Sci** U S A. 2005;102:11070-11075

61)Garzon S, Santos E, Palacios N, Vazquez C.Proteic malnutrition associated to bacterial overgrowth after Scopinaro bibliopancreatic diversion **Med Clin (Barc).** 2004 May 29;122(20):797-8. Spanish.

62)Greco M, De Micheli E, Lonardo A.Multifactorial hepatopathy in a patient with biliopancreatic diversion.**Ann Ital Med Int.** 2003 Apr-Jun;18(2):99-103. Italian.

63)Picard M, Frederic Simon H, Stefane L, Simon M, Simon B.Complications of combined gastric restrictive and malabsorptive procedures: part 2. **Curr Surg.** 2003 May-Jun;60(3):274-9; discussion 279-81

64)Cossu ML, Fais E, Meloni GB, Profili S, Masala A, Alagna S, Rovasio PP, Sparta C, Pilo L, Tilocca PL, Noya G.Impact of age on long-term complications after biliopancreatic diversion.**Obes Surg.** 2004 Oct;14(9):1182-6.

65)Scopinaro N.Biliopancreatic diversion: mechanisms of action and long-term results. **Obes Surg.** 2006 Jun;16(6):683-9.

66)O'Rourke RW, Andrus J, Diggs BS, Scholz M, McConnell DB, Deveney CWPerioperative morbidity associated with bariatric surgery: an academic center experience.**Arch Surg.** 2006 Mar;141(3):262-8.

67)Mason ME, Jalagani H, Vinik AI.Metabolic complications of bariatric surgery: diagnosis and managementissues.Gastroenterol **Clin North Am**. 2005 Mar;34(1):25-33. Review.

68)Langdon DE, Leffingwell T, Rank DHepatic failure after biliopancreatic diversion. **Am J Gastroenterol**. 1993 Feb;88(2):321.

69)Sekhar N, Gagner M.Complications of laparoscopic biliopancreatic diversion with duodenal switch. **Curr Surg.** 2003 May-Jun;60(3):279-80; discussion 280-1

70)Nelson WK, Fatima J, Houghton SG, Thompson GB, Kendrick ML, Mai JL, Kennel KA, Sarr MG.The malabsorptive very, very long limb Roux-en-Y gastric bypass for super obesity: results in 257 patients. **Surgery.** 2006 Oct;140(4):517-22, discussion 522-3. Epub 2006 Sep 1.

71)Leodolter A, Kulig M, Brasch H, Meyer-Sabellek W, Willich SN, Malfertheiner P. A meta-analysis comparing eradication, healing and relapse rates in patients with Helicobacter pylori-associated gastric or duodenal ulcer.**Aliment Pharmacol Ther** 2001 Dec;15(12):1949-58

72)Hopkins RJ, Girardi LS, Turney EA. Relationship between Helicobacter pylori eradication and reduced duodenal and gastric ulcer recurrence: a review. **Gastroenterology** 1996 Apr;110(4):1244-52

73)Renshaw AA, Rabaza JR, Gonzales AM, Verdeja JC. H. pylori infection in patients undergoing gastric bypass surgery for morbid obesity. **Obes Surg** 11: 281-283, 2001

74)Schimer B; Erenoglu C.; Miller A. Helicobacter pylori infection in patients undergoing gastric bypass surgery for morbid obesity. **Obes. Surg**.;12(5)634-8, 2002 Oct.

75)Tomtotchong P; Onda M; Matsukura N; Tokunaga A; Kato S; Matsushita T; Yamada N; Hayashi A. Helicobacter pylori infection in the remnant stomach after gastrectomy: with special reference to the difference between Billroth I and II anastomoses.**J ClinGstroenterol**, 27suppl 1: S154-8,1998.

76)Versalovic J. Helicobacter pyolori Pathology and diagnostic strategies. **AmJClinPathol**;119(3): 403-12, 2003 Mar.

77)Pritchard DM, Crabtree JE Helicobacter pylori and gastric cancer. **Curr Opin Gastroenterol**. 2006 ;22: 620-5.

78) Romano M, Ricci V, Zarrilli R. Mechanisms of disease: Helicobacter pylori-related gastric carcinogenesis--implications for chemoprevention. **Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol** 2006; 3: 622- 632 **Endoscopia e Cirurgia Bariátrica: inv**

79)Sundbom M, Nyman R, Hedenstrom H, Gustavsson S. Investigation of the excluded stomach after Roux-en-Y gastric bypass.**Obes Surg** 2001 Feb;11(1):25-7

80)Renshaw AA. Rabaza JR, Gonzales M, Verdeja JC. Flexible endoscopy in the management of patients undergoing Rou-en-Y Gastric Bypass.**ObesSurg**11(3): 281-3, 2001 Jun.

81)Pareja JC, Pilla VF, Callejas F, Depieri LA, Geloneze B, Chaim WA. Avaliação endoscopica do reservatório gástrico no pós-operatorio da cirurgia de Capella. Experiência em 189 doentes.**Boletim de Cirurgia de Obesidade 2**: 15,2001.

82)May A, Nachbar L, Wardak A, Yamamoto H, Ell C. Double-Balloon Enteroscopy: Preliminary Experience in Patients with Obscure Gastrointestinal Bleeding or Chronic Abdominal Pain.**Endoscopy.** 35:985-991, 2003

83)Sakai P, Kuga R, Safatle-Ribeiro A, Faintuch J et al. Is it feasible to reach the bypassed stomach after Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity? The use of the double-balloon enteroscope . **Endoscopy** 2005;37:566-69.

84)Yang CS, Lee WJ, Wang HH, Huang SP, Lin JT, Wu MS. Spectrum of endoscopic findings and therapy in patients with upper gastrointestinal symptoms after laparoscopic bariatric surgery. **Obes Surg** 2006; 16:1232-1237

85)MacGregor AM, Pickens NE, Thoburn EK. Perforated peptic ulcer following gastric bypass for obesity. **Am Surg** 1999; 65: 222- 225

86)Richter JE. Duodenogastric Reflux-induced (Alkaline) Esophagitis. Curr treat Options **Gastroenterol** 2004; 7: 53- 58

87)Friis-Hansen L, Rieneck K, Nilsson HO, Wadstrom T, Rehfeld JF. Gastric inflammation, metaplasia, and tumor development in gastrin-deficient mice. **Gastroenterology**. 2006 Jul;131(1):246-58.

88)Schirmer B, Erenoglu C, Miller A.Flexible endoscopy in the management of patients undergoing Roux-en-Y gastric bypass.**Obes Surg**. 2002 Oct;12(5):634-8.

89)Csendes A, Smok G, Burgos AM.Endoscopic and histologic findings in the gastric pouch and the Roux limb after gastric bypass.**Obes Surg**. 2006 Mar;16(3):279-83.

90)Madan AK, Speck KE, Hiler ML.Routine preoperative upper endoscopy for laparoscopic gastric bypass: is it necessary?**Am Surg**. 2004 Aug;70(8):684-6.

91)Klaus A, Hinder RA, Nguyen JH, Nelson KL. Small bowel transit and gastric emptying after biliodigestive anastomosis using the uncut jejunal loop **Am J Surg**. 2003 Dec; 186(6): 747-51.

92)**Menge H, Simes G, Germer CT, Wagner J, Hahn H, Riecken EO. Qualitative and quantitative detection of bacterial flora in experimental blind loop syndrome of the rat Z** Gastroenterol. **1985 Aug; 23(8): 425-31.**

93)Miller B, Mitchison R, Tabagahali S, Neale G. The effects of excessive proliferation on protein metabolism in rats with self-filling jejunal sacs **Eur J Clin Invest**. 1971nov; 2(1): 23-31.

94)Morris DL, Poxon V, Youngs D, Keighley M. Gastric juice factors after Roux-en-Y reconstruction compared with Billroth II partial gastrectomy **Am J Surg**. 1989 Jul; 156(1): 21-5.

95)Fabry H, Henrickx L, Van Hee R. Gastric juice factors after Roux-en-Y reconstruction compared with Billroth II partial gastrectomy **Obes Surg**. 2001 oct; 11(5): 643-5.

96)Bray GA, Benfield JR. Intestinal bypass for obesity a summary and perspective. Am **J Clin Nutr** 1977; 30: 121- 127 (bacterial overgrowth)
97)Anonimous: Intestinal bypass operation as a treatment for obesity. **Ann Intern Med** 1976; 85: 97- 109(pseucolonic obstruction)
98)Passaro E Jr, Drenick E, Wilsion SE. Bypass enteritis. A new complication of jejunoileal bypass for obesity. **Am J Surg** 1976; 131: 169- 174
99)Bragelmann R, Ambrecht U, Rosemeyer D, Schneider B, Zilly W, Stockbrugger RW. Small bowel bacterial overgrowth in patients after total gastrectomy. **Euro J Clin Invest** 1997;27:409-416.
100)Payne JH, De Wind LT. Surgical treatment of obesity. **Am J Surg** 118: 141-147, 1969.
101)Salmon PA. The results of small intestinal bypass operations for the treatment of obesity. **Surg Gynecol Obstet** 132: 965-979,1971.
102)Scott HW Jr, Dean RH, Shull HJ et al. Surgical management of morbid obesity: current considerations in the use of extensive jejunoileal bypass. **South Med J 69**: 789, 1976.
103)Scott HW Jr., Dean RH, Shull HJ et al. Results of jejunoileal bypass in two hundred patients with morbid obesity. **Surg Gynecol Obstet** 145: 661-673, 1977.
104)Kremer NA, Linner JH, Nelson CH. Experimental evaluation of the nutricional importance of proximal and distal small intestine. **Ann Surg** 140: 439, 1954.
105)Griffen WO Jr, Young VL, Stevenson CC. A prospective comparison of gastric and jejunoileal bypass procedures for morbid obesity. **Ann Surg** 186:500, 1977.
106)Payne JA, De Wind LT. Surgical treatment of obesity. Am J Surg 118: 141-149, 1969.
107)Vage V, Solhaug JH, Berstad A, Suanes K, Viste A. Jejuno-ileal bypass in the treatment of morbid obesity: a 25-year follow-up study of 36 patients Obes Surg. 2002 Jun; 12(3): 312-8.
108)Stodkeld D, Backman L, Granstrom L. Jejunoileal bypass operations with a side-to-side anastomosis in the treatment of morbid obesity. 20 years small intestinal bypass surgery. What's **Obes Surg**. 1991 Jun; 1(2): 161-64.
109) Husemann B. 20 years small intestine bypass surgery. What is left?.**Chirurg**. 2000 Feb; 24(8):623-4.

110)Lord RV, Edwards PD, Coleman MJ. Gastric cancer in the bypassed segment after operation for morbid obesity. **Aust N Z J Surg**. 1997 Aug;67(8):580-2

111)Voellinger DC, Inabnet WB Laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass with remnant gastrectomy for focal intestinal metaplasia of the gastric antrum. **Obes Surg**. 2002 Oct;12(5):695-8.

112)Khitin L, Roses RE, Birkett DH. Cancer in the gastric remnant after gastric bypass: a case report. **Curr Surg**. 2003 Sep-Oct;60(5):521-3.

113)Ballinger A. Fundamental mechanisms of growth failure in inflammatory bowel disease **Horm Res.** 2002; 58 Suppl 1: 7-10.

114)Hanada T, Yoshimura A. Regulation of cytokines signaling and inflammation **Cytokine Growth Factor Rev.** 2002 Aug-Oct; 13(4-5): 413-21. Review.

115)Tsukada Y, Nakamura T, Iimura M, Iizuka BE, Hayashi N**.** Cytokine profile in colonic mucosa of ulcerative colitis correlates with disease activity and response to granulocytapheresis **Am J Gastroenterol.** 2002 Nov; 97(11): 2820-8.

116)Souza DG, Vieira AT, Soares AC, Pinho V, Nicoli JR, Vieira LQ, Teixeira MM. The essential role of the intestinal microbiota in facilitating acute inflammatory responses **J Immunol**. 2004 Sep 15; 173(6): 4137-46.

117)Carlsson HE, Lindberg AA, Hammarstrom S, et al.: Quantification of Salmonella O-anibodies in human sera by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Int Arch Allergy Appl Immunol** 1975; 48:485-494.

118)Engvall E, Jonsson K, Perlmann P: Quantitative assay of protein antigen, immunoglobulin G, by means of enzyme-lablled antigen and antibody-coated tubes. **Biochim Biophys Acta** 1971; 251:427-434.

119)Engvall E, Perlmann P: Enzyme-linked immunosobent assay (ELISA): Quantitative assay of immunoglobulin G. **Immunochemistry** 1971; 8:871-874.

120)Nemzek JA, Siddiqui J, Remick GD:Development and optimization of cytokine ELISAs using commercial antibody pairs. **JIM J Imm Methods** 2001;255:149-157.

121)Voller A, Bidwell DE: A simple method for detectimg antibodies to rubella. **Br J Exp Pathol.** 1975;56:338-339.

122)Bell MU, Kochanek PM, Doughty LA, et al: Comparison of the interleukin-6 and interleukin-10 response in children after severe traumatic brain injury or septic shock. **Acta Neurochir Suppl** 1997; 70:96-97.

123)Lai Y, Feldman KL, Clark RSB:Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs). **Crit Care Med** 2005; 33:,12:S433-S434.

124)Lin RY, Astiz ME, Saxon JC, et al: Relationships between plasma cytokine concentrations and leukocyte functional antigen expression in patients with sepsis. **Crit Care Med** 1994; 22: 1595-1602.

125)Meduri GU, Kohler G, Headly S, et al: Inflammatory cytokines in the BAL of patients with ARDS: Persistent elevation over time predicts poor outcome. **Chest** 1995; 108:1303-1314.

126)Meduri Gu, Headly S, Kohler G, et al: Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS: Plasma IL-1 beta and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over the time. **Chest** 1995;107:1062-1073.

127)Okunieff P, Cornelison T, Mester M, Liu W, Ding I, Chen Y, Zhang H, Williams JP, Finkelstein J. Mechanism and modification of gastrointestinal soft tissue response to radiation: role of growth factors.**Int J Radiat Oncol Biol Phys.** 2005 May 1;62(1):273-8.

128)IshidaRK, Faintuch J, Sakai P et al.Microbial counts of the stomach after Roux-en-Y gastric bypass(RYGBP) for morbid obesity.**Obes Surg** 2006;16:430(abstract)

129)D'Haens G. Mucosal Healing in pediatric Crohn's disease: the goal of medical treatment **Inflamm Bowel Dis.** 2004 Jul; 10(4): 479-80.

130)Corazza N, Brunner T, Buri C, Rihs S, Imboden MA, Seibold I, Mueller C. Transmembrane tumor necrosis factor is a potent inducer of colitis even in the absense of its secreted form **Gastroenterology.** 2004 Sep; 127(3): 816-25.

131)Martinez-Borra J, Lopez-Carrea C, Gonzalez S, Fuentes D, Dieguez A, de Francisco R, Rodrigo L**.** High serum tumor necrosis factor-alpha levels are associated with lack of response to infliximab in fistulizing Crohn's disease **Am J Gastroenterol.** 2002 Sep; 97(9): 2350-6.

132)Hale KK, Smith CG, Baker SL, Vanderglice T, Russell DA**.** Multifunctional regulation of the biological effects of TNF-alpha by soluble type I and type II TNF receptors **Cytokine.** 1995 Jan; 7(1): 26-38.

133)Sandbom WJ, Targan SR**.** Biologic therapy of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology.** 2002 May, 122(6): 1592-608**.**

134)Horvath CM. The Jak-STAT. Pathway stimulated by Interleukin 6. Sci STKE. 2004 Nov 23; 2004(260): tr 9.

135)Ito H. Anti-interleukin 6. Therapy for Crohn's disease **Curr Pharm Des.** 2003; 9(4): 295-30. Review.

136)Waidmann N, Hamann A, Autenreth BI. Microflora reactive IL-10 Producing regulatory T cells are present in the colon of IL-2 deficient mice but lack efficacious inhibition of INF-gama and TNF-alpha production. **Gut**. 2002; 50: 170-79.

137)Schimit A, Carol M, Robert F, Bontems P, Houben JJ, Van Gossun A, Goldman M, Mascart F**.** Dose-effect of interleukin-10 and its immuno-regulatory role in Crohn's disease. **Eur Cytokines Netw.** 2002 Jul-Sep; 13(3): 298-305.

138)Allez M, Mayer L**.** Regulatory T cells: peace keepers in the gut. **Inflamm Bowel Dis.** 2004 Sep; 10(5): 666-76.

139)Ito K, Takaishi H, Jin Y, Song F, Denning TL, Ernst PB. Staphylococcal Enterotoxin B stimulates expansion of auto reactive T cells That induce apoptosis in intestinal epithelial cells: Regulation of auto reactive. Responses by IL-**10The J of Immunol.** 2000; 164:2994-3001.

140)Torres SA, Rose-John S. The role of soluble receptors in cytokine biology: the agonistic properties of the sIL-6R/IL-6 comples. **Biochim Biophys Acta**. 2002 Nov 11; 1592(3): 251-63.

141)Denning TL, Campbell NA, Song F, Garofalo RP. Expression of IL-10 receptors on epithelial cells from the murine small and large intestine **Int Immunol**. 2002 Feb; 12(2): 133-9.

142)Holtmann MH, Douni E, chutz M, Zeller G, Mudter J, Lehn HA, Gerspach J, Scheurich P , Galle PR, Kellias G, Neurath MF. TNF-receptor 2 is up-regulated on lamina propria T cells in Crohn's disease and promotes experimental colitis in vivo **Eur J Immunol.** 2002 Nov; 32(11): 3142-51.

143)Riordan SM, McIver CJ, Wakefiekd D, Thomas MC, Duncombe VM, Bolin TD. Serum immunoglobulin and soluble IL-2 receptor levels in small intestinal overgrowth with indigenous gut flora. **Dig Dis Sci**. 1999 ;44:939-44.

144)Raju J, Bajaj G, Chrusch J, Bird RP.Obese state leads to elevated levels of TGF-beta and COX isoforms in platelets of Zucker rats.**Mol Cell Biochem**. 2006 Mar;284(1-2):19-24. Epub 2006 Feb 14.

145)Pandey M, Loskutoff DJ, Samad F.Molecular mechanisms of tumor necrosis factor-alpha-mediated plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipocytes. **FASEB J.** 2005 Aug;19(10):1317-9. Epub 2005 May 31.

146) Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. **Vitam Horm** 2006; 74: 443-477

147) Li Z, Li J. Local expressions of TGF-beta1, TGF-beta1RI, CTGF, and Smad-7 in Helicobacter pylori-associated gastritis. **Scand J Gastroenterol** 2006; 41: 1007- 1012

148) Calcagni E, Elenkov I. Stress system activity, innate and T-helper cytokines, and susceptibility to immune-related diseases. **Ann NY Acad Sci** 2006; 1069: 62-76

149)Shimizu T, Haruna H, Ohtsuka Y, Kaneko K, Gupta R, Yamashiro Y Cytokines in the gastric mucosa of children with Helicobacter pylori infection. **Acta Pediatr** 2004; 93: 322-326

150) Shih SC, Tseng KW, Lin SC, Kao CR, Chou SY, Wang HY et al. Expression patterns of transforming growth factor-beta and its receptors in gastric mucosa of patients with refractory gastric ulcer. **World J Gastroebnterol** 2005; 11: 136-141

151) Monteleone G, Del Vecchio Blanco G, Palmieri G, Vavassori P, Monteleone I, Colantoni A, Battista S, Spagnoli LG, Romano M, Borrelli M, MacDonald TT, Pallone F. Induction and regulation of Smad7 in the gastric mucosa of patients with *Helicobacter pylori* infection. **Gastroenterology** 2004; 126: 674-682

152) Zavros Y, Merchant JL. Modulating the cytokine response to treat Helicobacter gastritis. **Biochem Pharmacol** 2005; 69: 365-371

153) Maciorkowska E, Panasiuk A, Kaczmarski M. Concentrations of gastric mucosal cytokines in children with food allergy and Helicobacter pylori infection. **World J Gastroenterol** 2005; 11: 6751-6756

154) Klausz G, Tiszai A, Lenart Z, Gyulai Z, Tiszlavicz L, Hogye M, Csanady M, Lonovics J, Mandi Y. Helicobacter pylori-induced immunological responses in patients with duodenal ulcer and in patients with cardiomyopathies. **Acta Microbiol Immunol Hung** 2004; 51: 311-320

155) Wu CY, WU MS, Chen YJ, Chen CJ, Lin JT, Chen GH. Influence of COX-2 and local cytokine expressions in gastric ulcer mucosa by H. pylori and NSAID. **Hepatogastroenterology** 2006; 53: 797- 803

156) Li MO, Sanjabi S, Flavell RA. Transforming growth factor-beta controls development, homeostasis and tolerance of T cells by regiulatory T-cell dependent and independent mechanisms. **Immunity** 2006; 25: 455- 471

157)Isenberg, H.D., Baron, E.JO., D' Amato, R. F., Johnson, R. C., Murray, P.R., Rodgers, F.G., Graevenitz, A. Von. Recomendation for the isolation of bacteria from clinical specimens. In: **Manual clinical microbiology**. 5ª ed. 1970. p.216-221.

158)Mislivec P.B, Beuchat, L.R., Cousin, M. A. Yeasts and molds. In: VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, DF., eds. **Compendium of the**

microbiological examination of foods. 3ª ed. Washington: American Public Health Association, 1992. p. 239-249.

159)Sonnenburg JL, Angenent LT, Gordon JI. Getting a grip on things: how do communities of bacterial symbionts become established in our intestine? **Nat Immunol.** 2004 Jun;5(6):569-73.

160)Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine.
Science. 2005 Mar 25;307(5717):1915-20. Review.

161)Sonnenburg JL, Xu J, Leip DD, Chen CH, Westover BP, Weatherford J, Buhler JD, Gordon JI.Glycan foraging in vivo by an intestine-adapted bacterial symbiont.**Science.** 2005 Mar 25;307(5717):1955-9.

162)Ley RE, Backhed F, Turnbaugh P, Lozupone CA, Knight RD, Gordon JI. Obesity alters gut microbial ecology.**Proc Natl Acad Sci U S A.** 2005 Aug 2;102(31):11070-5. Epub 2005 Jul 20.

163)Sonnenburg ED, Sonnenburg JL, Manchester JK, Hansen EE, Chiang HC, Gordon JI. A hybrid two-component system protein of a prominent human gut symbiont couples glycan sensing in vivo to carbohydrate metabolism.**Proc Natl Acad Sci U S A.** 2006 Jun 6;103(23):8834-9. Epub 2006 May 30.

164)Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PB, Turnbaugh PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson KE.Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome.**Science.** 2006 Jun 2;312(5778):1355-9.

165)Martinsen TC, Bergh K, Waldum HL. Gastric juice: a barrier against infectious diseases. **Basic Clin Pharmacol Toxicol**. 2005 ; 96 :94-102

166)O'May GA, Reynolds N, Macfarlane GT .Effect of pH on an in vitro model of gastric microbiota in enteral nutrition patients. **Appl Environ Microbiol** 2005; 71: 4777-4783

167)Jones T, Gill CO, McMullen LM. Behaviour of log-phase Escherichia coli at temperatures near the minimum for growth. Int VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, DF., eds. **Compendium of the microbiological examination of foods. 3ª ed.** Washington: American Public Health Association, 1992. p. 239-249.**J Food Microbiol** 2003; 88: 55-61

168)Mandel GL, Bennett JE, Dolin R, eds. **Principles and Practice of infectious disease. 4th ed.** Philadelphia: Churchill Livingstone; 1995:2204–9

169)Husebye E. The pathogenesis of gastrointestinal bacterial overgrowth. **Chemotherapy** 2005; 51 (Suppl 1): 1-22

170)Pereira SP, Gainsborough N, Dowling RH. Drug-induced hypochlorhydria causes high duodenal bacterial counts in the elderly. **Alim Pharmacol Ther** 1998; 12: 99- 104

171)Harter RL, Kelly W B, Kramer MG, Perez C E, Dzwonczyk RR A Comparison of the Volume and pH of Gastric Contents of Obese and Lean Surgical Patients. **Anesth Analg** 1998; 86: 147- 152

172)Blaut M, Clavel T.Metabolic diversity of the intestinal microbiota: implications for health and disease.**J Nutr.** 2007 Mar;137(3):751S-5S. PMID: 17311972 [PubMed - in process]

173)Hopkins MJ, Sharp R, Macfarlane GT.Variation in human intestinal microbiota with age.**Dig Liver Dis.** 2002 Sep;34 Suppl 2:S12-8.

174)Tsuchida K, Sunada Y, Noji S, Murakami T, Uezumi A, Nakatani M.Inhibitors of the TGF-beta superfamily and their clinical applications.**Mini Rev Med Chem**. 2006 Nov;6(11):1255-61. Review.

175)Lo J, Bernstein LE, Canavan B, Torriani M, Jackson MB, Ahima RS, Grinspoon SKEffects of TNF-{alpha} Neutralization on Adipocytokines and Skeletal Muscle Adiposity in the Metabolic Syndrome.**Am J Physiol Endocrinol Metab**. 2007 Mar 20; [Epub ahead of print]

176)Van Guilder GP, Hoetzer GL, Greiner JJ, Stauffer BL, Desouza CA Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults.**Obesity (Silver Spring).** 2006 Dec;14(12):2127-31.

177)Wassink AM, Olijhoek JK, Visseren FL.The metabolic syndrome: metabolic changes with vascular consequences.**Eur J Clin Invest**. 2007 Jan;37(1):8-17.

178)Alexandraki K, Piperi C, Kalofoutis C, Singh J, Alaveras A, Kalofoutis A Inflammatory process in type 2 diabetes: The role of cytokines.**Ann N Y Acad Sci**. 2006 Nov;1084:89-117. Review.

179)Raju J, Bajaj G, Chrusch J, Bird RPObese state leads to elevated levels of TGF-beta and COX isoforms in platelets of Zucker rats.**Mol Cell Biochem**. 2006 Mar;284(1-2):19-24. Epub 2006 Feb 14.

180)Rippon JW: **Medical Mycology**. Third ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1988.

181)Wyngaarden JB, Smith LLH, Bennett CJ: **Cecil Textbook of Medicine**. 19:1926-46. Copyright 1992. W.B. Saunders Company traduzido por Editora Guanabara koogan S.A.

182)IshidaRK, Faintuch J, Sakai P et al.Microbial counts of the stomach after Roux-en-Y gastric bypass(RYGBP) for morbid obesity.**Obes Surg** 2006;16:430(abstract)

183)Romagnuolo J, Schiller D, Bailey R. Using breath tests wisely in a gastroenterology practice: an evidence-based review of indications and pitfalls in interpretation. **Am J Gastroenterol** 2002; 97: 1113- 1126

184)Ghoshal UC, Ghoshal U, Das K, Misra A.Utility of hydrogen breath tests in diagnosis of small intestinal bacterial overgrowth in malabsorption syndrome and its relationship with oro-cecal transit time.**Indian J Gastroenterol.** 2006 Jan-Feb;25(1):6-10

185)Riordan SM, McIver CJ, Walker BM, Duncombe VM, Bolin TD, Thomas MC.The lactulose breath hydrogen test and small intestinal bacterial overgrowth**Am J Gastroenterol.** 1996 Sep;91(9):1795-803

186)Riordan SM, McIver CJ, Bolin TD, Duncombe VM.Fasting breath hydrogen concentrations in gastric and small-intestinal bacterial overgrowth. **Scand J Gastroenterol.** 1995 Mar;30(3):252-7

9. APÊNDICE

QUESTIONÁRIO PADRÃO

I) Identificação e dados pessoais Data do questionário: ___/___/___
Nome: _____ Data nasc. ---/---/-- Sexo___ Nº.Reg
Altura Peso pré- oper.:_____ IMC pré –operatório:_____
Telefone residencial: _____ Telefone comercial: _____
Celular: _____Outro telefone para recados: _____

II) Cirurgia
Data: ___/___/___ Complicações ou reoperações:_____

DADOS DE SEGUIMENTO

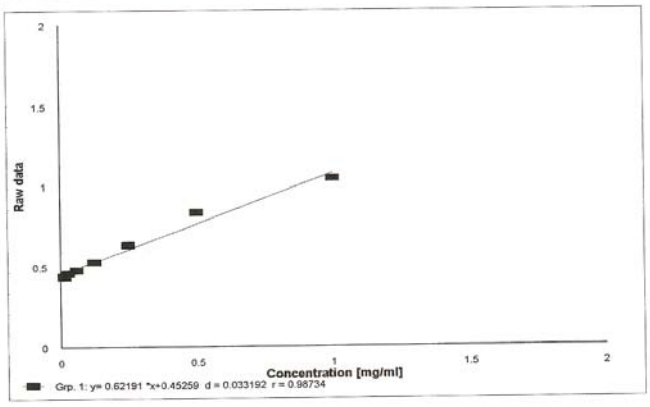
Data da avaliação: ___/___/___
Peso atual: _____ IMC: _____ % peso perdido: _____

a) Enteroscopia: Laudo:

Biópsias
Local 1: Bolsa remanescente, 04 cm abaixo do cárdia, face posterior
Local 2: Estômago diverticulizado, 8 cm do piloro, face posterior
:

d) Cultura:
Mesmos locais da biópsia (Locais 1 e 2):
Total de Criotubos por paciente: 2

Workspace/Method/Sample ID list: robsonprot032006.wsp - Hermes proteina .mth*
Date: 03/30/2006
Time: 12:14:22



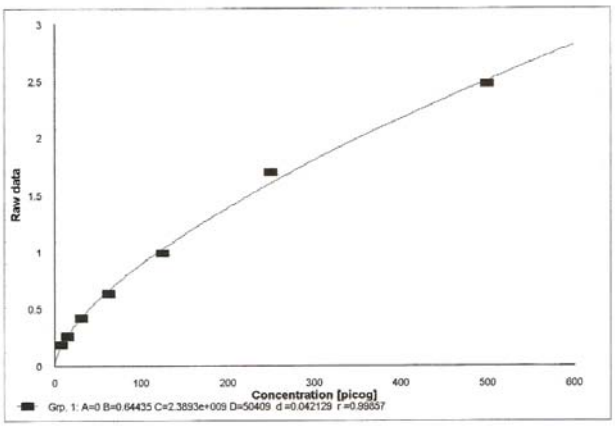
$x = \frac{0,449 - 0,45259}{0,62191}$

Magellan

Proteínas 30/03/2006

Workspace/Method/Sample ID list: HDRobsonTNF250406.wsp - Hermes TNF human.mth
Date: 05/03/2006
Time: 11:57:46

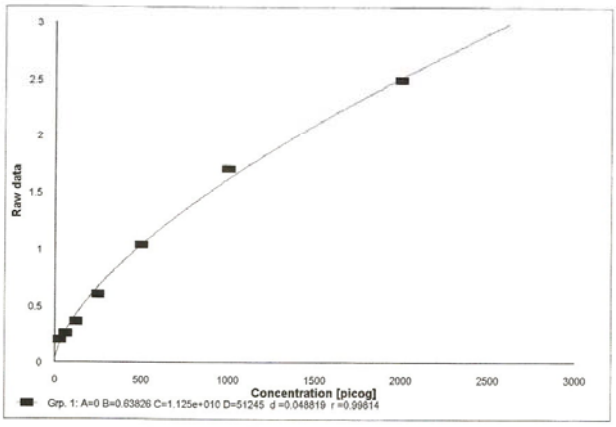
Page2



Hermes & Denise

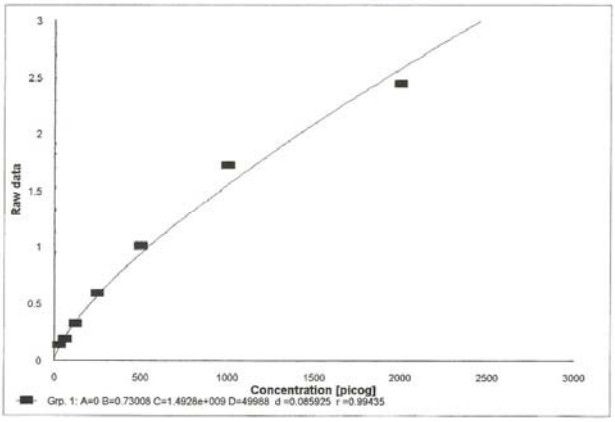
Magellan

Curva TNF-ALFA 03/02/2005

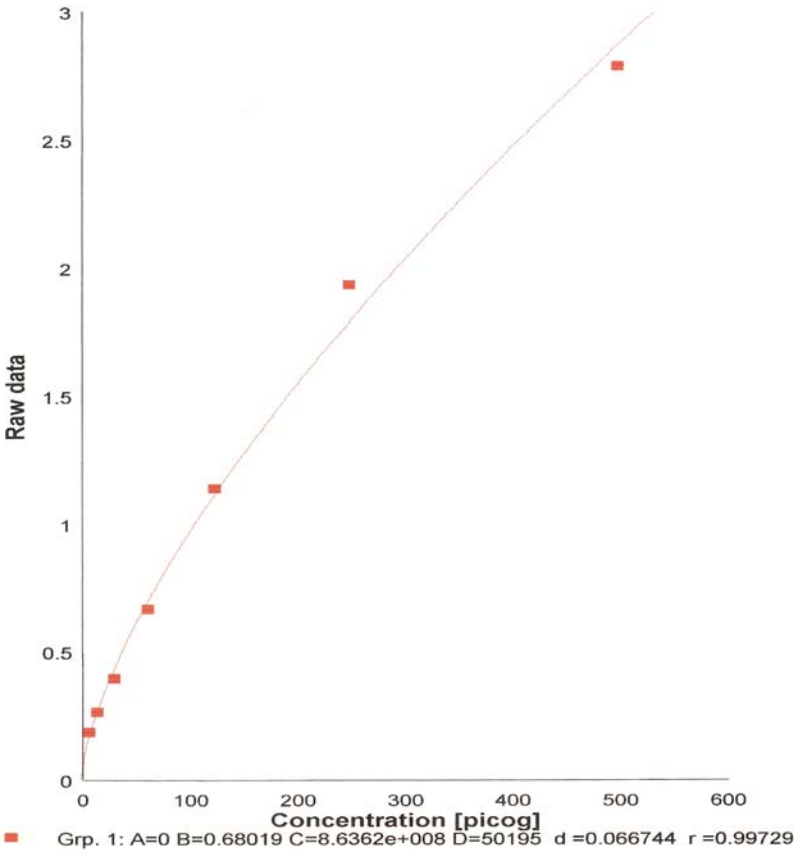


Graph: Standard Curve

4 Parameters



Curvas TGF-beta 19/08/2005 e 25/04/06



TNF-18/08/06

Curva TNF-ALFA 18-08-2006