

MICROBIOTA DO MEGAESÔFAGO E CARCINOGENESE

Denis PAJECKI¹, Bruno ZILBERSTEIN¹,
Manoel Armando Azevedo dos SANTOS², Alina Guimarães QUINTANILHA¹,
Ivan CECCONELLO¹ e Joaquim GAMA-RODRIGUES¹

RESUMO – *Introdução* – O risco de desenvolvimento de carcinoma esofágico em portadores de megaesôfago é 33 vezes superior ao da população em geral. Possível explicação para este fenômeno poderia estar relacionada à produção de compostos N-nitrosos na luz do órgão, a partir da transformação de nitratos da dieta em nitritos, mediada por bactérias em suspensão no líquido de estase e com o contato crônico destes carcinógenos com a mucosa esofágica. *Objetivo* – Analisar a microbiota esofágica em pacientes portadores de megaesôfago de etiologia chagásica, com especial atenção para a presença de bactérias com capacidade de redução de nitratos. *Casuística* – Foram estudados prospectivamente 15 pacientes portadores de megaesôfago chagásico com idades variando de 28 a 73 anos, sendo 9 do sexo feminino e 6 do sexo masculino, que foram divididos em 3 grupos iguais de 5, de acordo com o grau de dilatação do esôfago, segundo a classificação de Rezende et al. (Grau I, Grau II e Grau III). *Método* – A coleta do líquido de estase para estudo microbiológico era realizada através de sonda de Levine nº 14, que era passada pela boca, por dentro de uma cânula de intubação orotraqueal nº 7,5, mantendo-se sua extremidade escondida, a fim de evitar sua contaminação. *Resultados* – Foram obtidas 93,3% de culturas positivas com grande variedade de microrganismos e predomínio de aeróbios Gram-positivos e anaeróbios. As concentrações de microrganismos foram tanto maiores, quanto maior o grau de dilatação do esôfago. Entre os microrganismos encontrados, o *Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp, *Peptostreptococcus* sp e a *Veillonella* sp foram aqueles identificados como tendo a capacidade de redução de nitratos a nitritos. *Conclusão* – No megaesôfago chagásico há bactérias na luz do órgão com capacidade de redução de nitratos da dieta, passo importante na produção de compostos N-nitrosos.

DESCRIPTORIOS – Acalásia esofágica. Bactérias. Contagem de colônia microbiana.

INTRODUÇÃO

A prevalência de carcinoma epidermóide nos pacientes portadores de megaesôfago chagásico varia de 2,0% a 8,6% e em nosso meio gira em torno de 2,8% . Nesta situação, o risco de desenvolvimento de carcinoma é 33 vezes superior ao da população em geral⁽¹⁾.

Segundo LOVISCEK et al.⁽¹⁰⁾, a explicação fisiopatológica estaria na esofagite crônica decorrente da estase e conseqüente supercrescimento bacteriano, predispondo ao aparecimento de displasia epitelial e câncer.

Outra análise seria que a ação carcinogênica poderia estar relacionada à produção de compostos N-nitrosos na luz do órgão, mediada por bactérias em suspensão no líquido de

estase. Estes catalisariam a metabolização de nitratos da dieta, levando à formação maciça de nitritos e, em última análise, destes compostos orgânicos⁽³⁾. O contato crônico desses carcinógenos com a mucosa esofágica pode se constituir em outro possível fator envolvido no processo de carcinogênese.

Neste sentido, o objetivo deste estudo foi analisar a microbiota esofágica em pacientes portadores de megaesôfago de etiologia chagásica, com especial atenção para a presença de bactérias com capacidade de redução de nitratos.

CASUÍSTICA

Foram estudados prospectivamente 15 pacientes portadores de megaesôfago chagásico com idades variando de 28 a

¹ Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo do Departamento de Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – USP; ² Instituto de Ciências Biomédicas da USP.
Endereço para correspondência: Dr. Denis Pajecki – Rua Bahia, 226 – ap. 22 – Higienópolis – 01244-000 – São Paulo, SP. e-mail: pajecki@netpoint.com.br

73 anos, sendo 9 do sexo feminino e 6 do sexo masculino. Todos os pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido após explicação minuciosa e clara do procedimento de coleta.

Os pacientes foram divididos em três grupos iguais de cinco, de acordo com o grau de dilatação do esôfago, segundo a classificação de REZENDE et al.⁽¹³⁾ e chamados respectivamente de:

GM1 – megaesôfago grau I

GM2 – megaesôfago grau II

GM3 – megaesôfago grau III

Foram excluídos pacientes diabéticos, etilistas crônicos, portadores de neoplasias associadas, aqueles que haviam recebido antibióticos nos últimos 3 meses, os submetidos a operações prévias para tratamento da acalásia, portadores de megaesôfago grau IV e aqueles em uso de sonda nasoenteral para alimentação.

Método de coleta

Os pacientes recebiam dieta líquida nos 2 dias anteriores ao exame e ficavam em jejum de 12 horas na véspera deste. Era feita anestesia tópica da orofaringe com lidocaína spray e sedação com diazepam ou meperidina.

A coleta era realizada através de sonda de Levine nº 14, que era passada pela boca, por dentro de cânula de intubação oro-traqueal nº 7,5, mantendo-se sua extremidade escondida a fim de evitar sua contaminação. A sonda era, então, empurrada até atingir a luz esofágica, quando era aspirado o líquido de estase com seringa de 20 mL conectada em sua extremidade⁽⁷⁾. O material coletado era transportado em solução de tampão fosfatado (1 mL/9 mL) ao laboratório de microbiologia no prazo máximo de 1 hora.

Estudo microbiológico

Foram utilizados os métodos de Cowan e Steel para aeróbios e de Sutter e Hodeman⁽²⁾ para anaeróbios. Realizou-se análise qualitativa e quantitativa dos microrganismos encontrados.

Análise estatística

Para comparação entre as concentrações de microrganismos entre os grupos foi utilizado o teste não-paramétrico para k amostras independentes de Kruskal-Wallis.

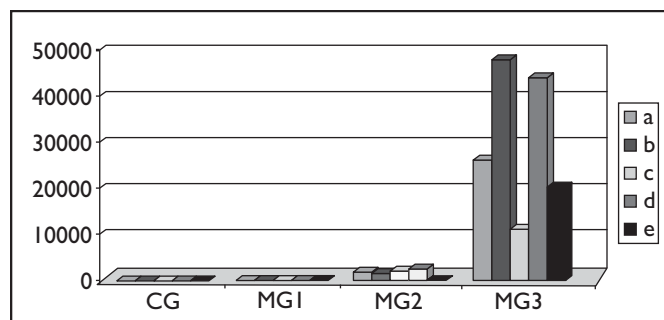
RESULTADOS

Foram obtidas 93,3% de culturas positivas com grande variedade de microrganismos e predomínio de aeróbios Gram-positivos e anaeróbios (Tabela 1).

As concentrações de microrganismos foram tanto maiores, quanto maior o grau de dilatação do esôfago ($P < 0,05$) (Figura 1).

TABELA 1 – Microbiota no megaesôfago (n = 15)

Microrganismos	Incidência	Concentração (ufc/mL)
<i>Streptococcus</i> sp	93,3%	10 ¹ a 10 ⁵
<i>Staphylococcus</i> sp	46,6%	10 ¹ a 10 ⁵
<i>Corynebacterium</i> sp	53,3%	10 ¹ a 10 ⁴
<i>Enterococcus</i> sp	33,3%	10 ² a 10 ⁵
<i>Klebsiella</i> sp	6,6%	10 ¹
<i>Veillonella</i> sp	73,3%	10 ¹ a 10 ⁵
<i>Peptococcus</i> sp	40%	10 ¹ a 10 ⁴
<i>Peptostreptococcus</i> sp	33,3%	10 ¹ a 10 ²
<i>Lactobacillus</i> sp	26,6%	10 ¹ a 10 ⁴
<i>Bacillus</i> sp	6,6%	10 ²
<i>Clostridium</i> sp	6,6%	10 ¹
<i>Bacteroides</i> sp	6,6%	10 ²
<i>Propionibacterium</i> sp	20%	10 ¹ a 10 ³
<i>Candida</i> sp	13,3%	10 ³ a 10 ⁴



CG = grupo controle; MG1 = mega grau I; MG2 = mega grau II; MG3 = mega grau III
a - Concentração total; b - Gram (+); c - anaeróbios; d - *Streptococcus* sp; e - *Veillonella* sp
a: MG1 <MG3*; MG2 <MG3*; CG <MG2*; CG <MG3*
b: MG1 <MG3*; CG <MG2*; CG <MG3*
c: CG <MG3*
d: MG1 <MG3*; CG <MG2*; CG <MG3*
e: CG <MG*
* = P < 0,05

FIGURA 1 – Concentrações bacterianas nos diferentes níveis de megaesôfago

Entre os microrganismos encontrados, o *Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp, *Peptostreptococcus* sp e a *Veillonella* sp foram aqueles identificados como tendo a capacidade de redução de nitratos a nitritos.

DISCUSSÃO

A flora bacteriana encontrada no líquido de estase dos pacientes portadores de megaesôfago foi constituída de microrganismos

pertencentes à microbiota normal da boca e orofarínge⁽¹⁶⁾, que proliferam em meio rico em nutrientes, pH em geral neutro⁽⁶⁾ e baixo potencial de oxido-redução, favorecendo o crescimento de microrganismos anaeróbios, como a *Veillonella* sp, um anaeróbio estrito.

Entre os microrganismos encontrados, o *Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp, *Peptostreptococcus* sp e a *Veillonella* sp apresentam em comum a capacidade de reduzir nitratos ingeridos com a dieta e transformá-los em nitritos, que, por sua vez, reagem com aminas e amidas também provenientes da dieta e acumuladas no líquido de estase, levando à formação de compostos N-nitrosos. A ação bacteriana se faz através da enzima nitrato-redutase, presente também em outros gêneros constituintes da microbiota normal do trato gastrointestinal como a *Escherichia coli*⁽⁴⁾.

A relação entre microbiota e câncer foi destacada por HILL⁽⁹⁾, que descreveu a produção bacteriana de carcinógenos e promotores, não apenas no sistema digestório, mas também no urinário e genital.

A relação dos compostos N-nitrosos com o carcinoma esofágico já foi apontada em inúmeros estudos epidemiológicos⁽¹⁸⁾. Sua ação carcinogênica no esôfago já foi demonstrada em estudos experimentais^(12, 14).

A produção endógena de compostos N-nitrosos catalisada por bactérias já foi demonstrada por GUADAGNI et al.⁽⁸⁾ em pacientes gastrectomizados e por ANDREOLLO⁽¹⁾, em estudo experimental de carcinogênese do coto gástrico.

Esta ação da microbiota no esôfago foi sugerida por FEIN et al.⁽⁵⁾, em estudo experimental de carcinogênese esofágica.

Em pacientes portadores de acalásia esofágica, o supercrescimento bacteriano no líquido de estase, com concentrações de até 10⁵ UFC/mL no megaesôfago grau III, criaria meio propício para a redução de nitratos

da dieta e formação maciça de nitritos e compostos N-nitrosos. A estase crônica faz com que estes compostos permaneçam por muito tempo em contato com a mucosa esfágica. A maior incidência de tumores em megas mais dilatados justifica-se desta maneira.

Os compostos N-nitrosos têm capacidade mutagênica no DNA celular. Mutações no gene p53 já foram identificadas na mucosa esofágica aparentemente normal de pacientes portadores de megaesôfago não-avançado, sugerindo sua propensão para transformação maligna^(15, 19). A presença de mutações nos segmentos mais proximais do esôfago poderia ser explicada pelo refluxo proximal do líquido de estase quando o paciente fica em decúbito dorsal ou pela característica de volatilidade das nitrosaminas. Não se sabe ainda se as mutações encontradas são aquelas sabidamente induzidas por compostos N-nitrosos⁽¹⁷⁾.

Neste contexto, acredita-se haver importante relação entre os gêneros bacterianos identificados e a carcinogênese, através da produção in vivo de compostos N-nitrosos. Esta assertiva, entretanto, carece de maior comprovação.

CONCLUSÃO

No megaesôfago chagásico há bactérias na luz do órgão com capacidade de metabolização de nitratos da dieta e possível papel no mecanismo da carcinogênese.

AGRADECIMENTO

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Pajecki D, Zilberstein B, Santos MAA, Quintanilha AG, Cecconello I, Gama-Rodrigues J. Megaesophagus microbiota and carcinogenesis. Arq Gastroenterol 2003;40(1):16-19.

ABSTRACT – Background – The risk of development of spin cell carcinoma of the esophagus is 33 times higher in patients with chagasic achalasia. It is possible that the production of N-nitroso compounds in the esophageal lumen by of bacterial action in the stasis liquid that reduce nitrates from diet into nitrites may play a role in this process. **Aim** – To analyze qualitatively and quantitatively the microbiota in chagasic megaesophagus with special attention to bacteria capable of transforming nitro reduction. **Patients** – Fifteen patients (six men and nine women) were prospectively studied, with ages varying from 28 to 73 years. Patients were divided into three sub-groups according to Rezende et al. classification of esophageal dilation (grade I, grade II and grade III). **Method** – The sample collection was performed using a method specially developed to avoid contamination with microorganisms of the oral cavity and oropharynx, using a Levine catheter n° 14 and a 7,5 oro-traqueal tube. **Results** – Ninety three point three percent of the cultures were positive, with great bacterial variability and predominance of a variety of aerobic Gram-positive and anaerobic bacteria. The bacterial concentrations were generally more elevated in grade III in comparison to grade I and grade II. Among the microorganisms found, *Staphylococcus* sp, *Corynebacterium* sp, *Peptostreptococcus* sp e a *Veillonella* sp were those with the capability of nitrate reduction. **Conclusion** – It was concluded that patients with megaesophagus present some bacteria in the esophageal lumen that are able to reduce nitrates into nitrites, an important step in the formation of N-nitroso compounds.

HEADINGS – Esophageal achalasia. Bacteria. Colonia count microbial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andreollo NA. Contribuição à etiopatogenia do câncer do coto gástrico: estudo experimental [tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 1993.
2. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg H, Shadomy HJ. Manual of clinical microbiology. 5th ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1991. 1364p.
3. Calmels S, Ohshimira H, Bartsch H. Nitrosamine formation by denitrifying and non-denitrifying bacteria: implication of nitrite reductase and nitrate reductase in nitrosation catalysis. *J Gen Microbiol* 1988;134:221-6.
4. Calmels S, Bereziat JC, Bartsch H. Bacterial formation of N-nitroso compounds from administered precursors in the rat stomach after omeprazole-induced achlorhydria. *Carcinogenesis* 1991;12:435-9.
5. Fein M, Fuchs KH, DeMeester TM, Peters JH, Witmann D, Weig M. Evaluation of the intestinal microflora in the rat model for esophageal adenocarcinoma. *Dis Esophagus* 2000;13:39-43.
6. Felix VN, Zilberstein B, Ceconello I, Pinotti HW. pHmetry in achalasia. In: Book of abstracts of the World 5th Congress of O.E.S.O.; 1996 September 3-7; Paris, France. p.121.
7. Gagliardi D, Makihara S, Corsi PR, Viana AT, Wiczler MVFS, Nakakubo S, Mimiça LMJ. Microbial flora of the normal esophagus. *Dis Esophagus* 1998;11:248-50.
8. Guadagni S, Walters CL, Smith PLR, Verzano R, Valenti M, Reed P. N-nitroso compounds in the gastric juice of normal controls, patients with partial gastrectomies and gastric cancer patients. *J Surg Oncol* 1996;63:226-33.
9. Hill MJ. Bacterial metabolism and human carcinogenesis. *Br Med Bull* 1980;36:89-94.
10. Loviscek LF, Cenoz MC, Badaloni AE, Agarinakazato O. Early cancer in achalasia. *Dis Esophagus* 1998;11:239-47.
11. Pinotti HW, Ceconello I, Zilberstein B. Megaesôfago. In: Pinotti HW, editor. Tratado de clínica cirúrgica do aparelho digestivo. São Paulo: Atheneu; 1994. p.316-45.
12. Reuber MD. Carcinomas of the esophagus in rats by diethylnitrosamine. *Eur J Cancer* 1975;11:97-9.
13. Rezende JM, Lauer KM, Oliveira AR. Aspectos clínicos e radiológicos da aperistalse do esôfago. *Rev Bras Gastroenterol* 1960;12:247-62.
14. Rubio CA, Liu F, Chejfec G, Sveander M. The induction of esophageal tumors in mice: dose and time dependency. *In Vivo* 1987;1:35-8.
15. Safatle-Ribeiro AV, Ribeiro Jr U, Sakai P, Clarke MR, Fylyk SN, Ishioka S, Gama-Rodrigues J, Finkelstein SD, Reynolds JC. Integrated p53 histopathologic/genetic analysis of premalignant lesions of the esophagus. *Cancer Detect Prev* 2000;24:13-23.
16. Souza JAU. Análise qualitativa e quantitativa da microbiota do segmento inicial do tubo digestivo: cavidade oral e esôfago de indivíduos saudáveis. [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2002.
17. Vermeer ITM, Engels LGJB, Panchen DMFA, Dallinga JW, Kleinjans JCS, Maanen JMS van. Intra-gastric volatile N-nitrosamines, nitrite, pH and *Helicobacter pylori* during long-term treatment with omeprazole. *Gastroenterology* 2001;121:517-25.
18. Weisburger JH, Raineri R. Assessment of human exposure and response to n-nitroso compounds: a new view on the etiology of digestive tract cancers. *Toxicol Appl Pharmacol* 1975;31:369-74.
19. Yamamuro EM. Megaesôfago – mapeamento histológico da mucosa esofágica. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 1998.

Recebido em 7/5/2002.
Aprovado em 15/10/2002.