



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

*Eixo Cérebro-Esôfago em obesos e não obesos e suas relações com
sintomas sugestivos de DRGE, imagem por ressonância magnética
funcional do cérebro, impedanciometria basal do esôfago e
distribuição da gordura abdominal*

Marcelo Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fornari

Porto Alegre, abril de 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA**

Tese de Doutorado

*Eixo Cérebro-Esôfago em obesos e não obesos e suas relações com
sintomas sugestivos de DRGE, imagem por ressonância magnética
funcional do cérebro, impedanciometria basal do esôfago e
distribuição da gordura abdominal*

A apresentação desta tese é exigência do Programa de Pós-graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Marcelo Ribeiro

Orientador: Prof. Dr. Fernando Fornari

Porto Alegre, abril de 2020

CIP - Catalogação na Publicação

Ribeiro, Marcelo

Eixo Cérebro-Esôfago em obesos e não obesos e suas relações com sintomas sugestivos de DRGE, Imagem por Ressonância Magnética funcional do cérebro, Impedanciometria basal do esôfago e distribuição da gordura abdominal / Marcelo Ribeiro. -- 2020.

85 f.

Orientador: Fernando Fornari.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Eixo Cérebro-Esôfago. 2. Imagem por Ressonância Magnética funcional. 3. Impedanciometria basal do esôfago. 4. Tomografia Computadorizada. 5. Doença do Refluxo Gastroesofágico DRGE. I. Fornari, Fernando, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

BANCA EXAMINADORA

1. Prof. Dr. Ary Nasi, Médico Doutor em Cirurgia do Aparelho Digestivo pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e Professor da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Email: Ary.Nasi@grupofleury.com.br
2. Prof. Dr. Matteo Baldisserotto, Médico Doutor em Medicina (Radiologia) pela Universidade Federal do Rio de Janeiro e Coordenador da Imagem do Abdome na Clínica Kozma. Email: matteobaldisserotto@gmail.com
3. Professora Dra. Valesca Dall'Alba, Nutricionista Doutora em Ciências Médicas pela UFRGS e Professora Associada do curso de Nutrição da UFRGS e Professora Permanente do PPG: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da UFRGS. Email: valesca.alba@gmail.com

*“O começo de todas as ciências é o
espanto de as coisas serem o que são.”*

Aristóteles

AGRADECIMENTOS

Agradeço

À minha família, em especial minha esposa, Luciane Buaes Dorneles;

Meu orientador, Prof. Dr. Fernando Fornari;

Colaboradores Profs. Drs. Cassiano Forcelini e Ricardo Soder e Prof. Mestre José Tomiozzo;

Equipe Clínica Kozma, Passo Fundo-RS;

Equipe PUC-RS;

PPG Ciências em Gastrenterologia e Hepatologia da UFRGS.

SUMÁRIO

RESUMO (Capítulo 1)	1
ABSTRACT (Capítulo 1)	2
RESUMO (Capítulo 2)	3
ABSTRACT (Capítulo 2)	4
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	5
LISTA DE FIGURAS	6
APRESENTAÇÃO	8
1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DA LITERATURA	10
2.1 DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO (DRGE)	10
2.2.1 Epidemiologia	10
2.2 OBESIDADE E DOENÇAS ESOFÁGICAS	12
2.3 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO	15
2.4 CARACTERIZAÇÃO DA DRGE	16
2.5 SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC)	17
3 JUSTIFICATIVA	21
4 QUESTÃO DE PESQUISA	22
5 HIPÓTESES	23
6 OBJETIVOS	24
6.1 GERAL	24
6.2 ESPECÍFICOS	24
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

CAPÍTULO 1 - ARTIGO 1	30
CAPÍTULO 2 - ARTIGO 2	57
CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	76
ORÇAMENTO	77
ANEXOS	78
ANEXO 1: Questionário de sintomas na DRGE	78
ANEXO 2: Inventário de depressão de Beck	79
ANEXO 3: Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton (HAM-A)	82
ANEXO 4: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	83

RESUMO (Capítulo 1)

Objetivos: Em obesos com e sem pirose, avaliamos: i. As respostas cerebrais à perfusão de ácido no esôfago durante a imagem cerebral funcional; ii. Impedanciometria basal do esôfago antes e após a perfusão ácida; e iii. Distribuição de gordura abdominal. **Métodos:** 26 participantes com obesidade (índice de massa corporal > 30 kg/m²) foram classificados de acordo com a presença ou ausência de pirose. Eles foram submetidos a exame de imagem por ressonância magnética funcional (IRMf) do cérebro combinada com perfusão esofágica de água (5 min, pH 6,5) e ácido (5 min, pH 1,5). A impedanciometria basal do esôfago foi determinada imediatamente antes e após a IRMf, seguida pela quantificação tomográfica da área de gordura abdominal. **Resultados:** Estudou-se 17 obesos com pirose (59% homens, 38,2 anos, 33,9 kg/m²) e 9 sem pirose (44% homens, 42,6 anos, 32,6 kg/m²). A imagem cerebral estava disponível para 25 participantes e a impedância esofágica e a área de gordura abdominal para 22. Antes da IRMf, a impedanciometria basal do esôfago foi menor em obesos com pirose do que em obesos sem pirose [mediana (intervalo interquartil): 1187 Ω (956 - 1630) vs. 1890 Ω (1547 - 2137); P = 0,025]. Após a perfusão ácida, a impedância basal diminuiu em obesos com pirose (de 1187 a 899 Ω; P = 0,011) e foi menor nesse grupo do que em obesos sem pirose [899 Ω (605-1158) vs. 1614 Ω (1122-2058)]; P = 0,001]. A análise tarefa-IRMf residual mostrou que obesos com pirose apresentaram maior conectividade funcional em várias regiões do cérebro do que obesos sem pirose. A gordura abdominal não diferiu entre obesos com e sem pirose: total (72,8 ± 4,4% vs. 70,3 ± 6,0%; P = 0,280), subcutânea (42,2 ± 9,0% vs. 37,4 ± 9,0%; P = 0,226) e visceral (30,6 ± 7,9% vs. 33,0 ± 7,8%; P = 0,484). **Conclusões:** Em pacientes com obesidade, o eixo cérebro-esôfago é diferente tanto centralmente, com maior conectividade funcional do cérebro, quanto na periferia, com diminuição da integridade da mucosa esofágica, na presença de pirose. **Palavras-Chave:** Gordura abdominal; impedância esofágica; DRGE; obesidade.

ABSTRACT (Capítulo 1)

Objectives: In obese subjects with and without heartburn, we assessed: i. The brain responses to esophageal acid perfusion during functional brain imaging; ii. Esophageal impedance baseline before and after acid perfusion; and iii. Abdominal fat distribution. **Methods:** Twenty-six participants with obesity (body mass index $> 30 \text{ kg/m}^2$) were classified according to presence/absence of heartburn. They underwent functional magnetic resonance imaging (fMRI) of the brain combined with esophageal perfusion of water (5 min, pH 6.5) and acid (5 min, pH 1.5). Esophageal impedance baseline was determined immediately before and after fMRI, followed by tomographic quantification of the abdominal fat area. **Results:** There were 17 obese with heartburn (59% men, 38.2 years old, 33.9 kg/m^2) and 9 without heartburn (44% men, 42.6 years old, 32.6 kg/m^2). Brain imaging was available for 25 participants, and esophageal impedance and abdominal fat for 22. Before fMRI, esophageal impedance baseline was lower in obese with heartburn than in obese without heartburn [median (interquartile range): 1187Ω (956 – 1630) vs. 1890Ω (1547 – 2137); $P = 0.025$]. After acid perfusion, esophageal impedance baseline decreased in obese with heartburn (from 1187 to 899Ω ; $P = 0.011$) and was lower in this group than in obese without heartburn [899Ω (605 – 1158) vs. 1614Ω (1122 – 2058); $P = 0.001$]. fMRI task-residual analysis showed that obese with heartburn presented higher functional connectivity in several brain regions than obese without heartburn. Abdominal fat did not differ between obese with and without heartburn either for total ($72.8 \pm 4.4\%$ vs. $70.3 \pm 6.0\%$; $P = 0.280$), subcutaneous ($42.2 \pm 9.0\%$ vs. $37.4 \pm 9.0\%$; $P = 0.226$) or visceral compartments ($30.6 \pm 7.9\%$ vs. $33.0 \pm 7.8\%$; $P = 0.484$). **Conclusions:** In patients with obesity, the brain-esophagus axis seems to be disrupted both centrally with higher functional brain connectivity, and peripherally with decreased esophageal mucosa integrity, in the presence of heartburn.

Key words: Abdominal fat; esophageal impedance; GERD; heartburn; obesity.

RESUMO (Capítulo 2)

Objetivo: Avaliar a percepção da pirose e as respostas de conectividade cerebral durante a estimulação com ácido esofágico em obesos e não obesos, controlando para sintomas da doença do refluxo gastroesofágico (DRGE). **Métodos:** Neste estudo transversal, 25 obesos (índice de massa corporal (IMC) ≥ 30 Kg / m²) e 46 não obesos foram submetidos ao exame de imagem por ressonância magnética funcional (IRMf) do cérebro com perfusão de água e ácido. O paradigma IRMf e a conectividade cerebral foram avaliados. **Resultados:** Dois terços dos participantes apresentaram DRGE. A percepção de pirose durante a IRMf não diferiu entre obesos e não obesos. A presença de DRGE foi associada a menor ativação de redes neurais nas regiões frontais do cérebro durante a perfusão ácida em comparação à perfusão com água. Comparados aos não obesos, os participantes obesos apresentaram conectividade reduzida na rede neural da saliência anterior. Os “clusters” corrigidos incluíam regiões do núcleo caudado esquerdo, putame esquerdo e giro cingulado anterior esquerdo. **Conclusões:** O eixo cérebro-esôfago mostrou alterações em obesos e não obesos. Na presença de sintomas de DRGE, a sensibilidade esofágica evocada pela perfusão ácida foi igual nessas populações em termos de percepção de pirose, mas foi acompanhada de alterações funcionais de redes neurais nas respostas cerebrais.

Palavras-chave: IRM funcional, perfusão de ácido esofágico, DRGE, obesidade.

ABSTRACT (Capítulo 2)

Aim: To evaluate heartburn perception and brain connectivity responses during esophageal acid stimulation in obese and nonobese, controlling for symptoms of gastroesophageal reflux disease (GERD). **Methods:** In this cross-sectional study, 25 obese (body mass index (BMI) ≥ 30 Kg/m²) and 46 nonobese underwent functional magnetic resonance imaging (fMRI) of the brain with esophageal water and acid perfusion. fMRI paradigm and connectivity were assessed. **Results:** Two-thirds of the participants had GERD symptoms. Heartburn perception during fMRI did not differ between obese and nonobese. The presence of GERD was associated with lower activation in frontal brain regions during acid perfusion compared to water perfusion. Compared to nonobese, obese participants presented significant reduced connectivity within the anterior salience network. Corrected clusters included left caudate, left putamen and left anterior cingulate gyrus regions. **Conclusions:** The brain-esophagus axis showed slight changes in obese and nonobese. In the presence of GERD symptoms, esophageal sensitivity evoked by acid perfusion was equal in these populations in terms of heartburn perception, but was accompanied of subtle changes in brain responses.

Keywords: functional MRI, esophageal acid perfusion, GERD, obesity.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DRE	<i>Doença do refluxo erosiva</i>
DREN	<i>Doença do Refluxo Endoscopicamente Negativa</i>
DRGE erosiva	<i>Doença do Refluxo Gastresofágico erosiva</i>
DRGE não erosiva	<i>Doença do Refluxo Gastresofágico não erosiva</i>
EIE	<i>Esfíncter Inferior do Esôfago</i>
EUA	<i>Estados Unidos da América</i>
HCl	<i>Ácido clorídrico</i>
IMC	<i>Índice de massa corporal</i>
IRM	<i>Imagem por Ressonância Magnética</i>
IRMf	<i>Imagem por Ressonância Magnética funcional</i>
JEG	<i>Junção Esofagogástrica</i>
MEAR	<i>Manometria Esofágica de Alta Resolução</i>
M-pH-I 24h	<i>Monitoramento de pH por impedância de 24 horas</i>
OMS	<i>Organização Mundial de Saúde</i>
RU	<i>Reino Unido</i>
SII	<i>Síndrome do Intestino Irritável</i>
SII	<i>síndrome do Intestino Irritável</i>
SNC	<i>Sistema Nervoso Central</i>
TA	<i>Tecido Adiposo</i>
TAV	<i>Tecido Adiposo Visceral</i>
TC	<i>Tomografia Computadorizada</i>
TCLE	<i>Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</i>
UFRGS	<i>Universidade Federal do Rio Grande do Sul</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição da prevalência de DRGE de acordo com prevalência global.	11
Figura 2. Distribuição da prevalência de DRGE de acordo com sub-regiões	11
Figura 3. Rede neural de processamento da dor: aspectos descritivos, emocionais e cognitivos	14
Figura 4. Efeitos do tecido adiposo visceral na JEG, iniciando-se pela hipersecreção gástrica para o desenvolvimento da esofagite de refluxo.	16
Figura 5. Atividades cerebrais em indivíduos saudáveis (A) e pacientes com DRGE (B).	20

CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1

Figure 1. Baseline esophageal impedance before and after fMRI with water and acid perfusion in obese with and without heartburn.	43
Figure 2. Selected functional networks from independent component analysis:	44
Figure 3. Significant cluster from age adjusted model (obese with heartburn > obese without heartburn).	44
Figure 4. Significant clusters from simple comparison model (obese with heartburn > obese without heartburn)	45

CAPÍTULO 2 – ARTIGO 2

Figure 1. Differences in trFC between obese and nonobese within the anterior salience network.	67
Figure 2. Mean connectivity values within the anterior salience network for each group in each cluster.....	68

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1 – ARTIGO 1

Table 1. Characteristics of the participants (n = 26).....	41
Table 2. Baseline esophageal impedance before and after fMRI with water and acid perfusion in obese with and without heartburn.	42
Table 3. Task-residual functional connectivity, significant clusters for differences in functional connectivity (with heartburn > without heartburn).	46
Table 4. Tomographic quantification of abdominal fat (% of the abdominal area) in obese with and without GERD.	47

CAPÍTULO 2– ARTIGO 2

Table 1. Characteristics of the participants (n = 71).....	64
Table 2. Heartburn perception (and score) during fMRI with esophageal perfusion (5 min water and 5 min acid) in obese and nonobese.	65
Table 3. Significant activation clusters, associated with GERD status (control > GERD), comparing acid perfusion with water perfusion.	65
Table 4. Significant trFC clusters, associated with obesity status within the anterior salience network (nonobese > obese).....	67

APRESENTAÇÃO

Este trabalho consiste na tese de doutorado intitulada “*Eixo Cérebro-Esôfago em obesos e não obesos e suas relações com sintomas sugestivos de DRGE, Imagem por Ressonância Magnética funcional do cérebro, Impedanciometria basal do esôfago, e distribuição da gordura abdominal*”, apresentada ao Programa de Pós-graduação: Ciências em Gastreenterologia e Hepatologia, da Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em 30 de abril de 2020. O trabalho é apresentado em três partes, na ordem que segue:

1. Introdução, Revisão da Literatura e Objetivos

2. Artigos:

Capítulo 1: Artigo 1: *Brain-esophagus interactions assessed by functional brain imaging, esophageal impedance baseline and abdominal fat distribution in obese with and without heartburn*

Capítulo 2: Artigo 2: *The brain-esophagus axis in obese and nonobese assessed by esophageal acid perfusion and functional brain imaging: are there differences in the presence of GERD symptoms?*

3. Conclusões e Considerações Finais

**Documentos de apoio estão apresentados nos anexos.*

1 INTRODUÇÃO

O número de pacientes com doença do refluxo gastroesofágico (DRGE) é cada vez maior nos últimos anos. É considerada uma das afecções digestivas de maior prevalência nos países ocidentais, devido aos maus hábitos alimentares e ao aumento de pessoas acima do peso ou obesas, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). Diversos estudos indicam que pessoas obesas têm risco maior de desenvolver DRGE e suas complicações, sendo a perda de peso uma parte importante do tratamento para esta doença.

No entanto, a influência da obesidade no eixo cérebro-esôfago (ECE) não está esclarecida e tem sido objeto de pesquisas nesta área. Há estudos que sugerem um estado de hipersensibilidade esofágica em obesos à perfusão de ácido, enquanto outros indicam o contrário, ou seja, hipersensibilidade.

Recentes tecnologias tem sido cada vez mais aplicadas na avaliação do ECE em pacientes com DRGE, particularmente do fenótipo não erosiva (DREN). Estudos convencionais utilizam a Imagem por Ressonância Magnética funcional (IRMf), que consiste em repetidas estimulações esofágicas em *modelos de tarefas* para avaliar ativações corticais focais. Através de exames de IRMf é possível investigar o processamento cortical de sensações somáticas e viscerais nas áreas cerebrais envolvidas no ECE, mediadas por estimulação multimodal esofágica mecânica, química ou térmica, além de realizar a mensuração de resposta cerebral a diferentes intensidades do estímulo esofágico. Estudos demonstraram que redes neurais e domínios cerebrais específicos respondem à perfusão do ácido esofágico em pacientes com DRGE.

Através da necessidade de avanços no entendimento da percepção esofágica em obesos, especificamente no que tange à interação cérebro-esôfago, o presente estudo busca respostas para contribuir em progressos de base fisiopatológicas nesta área, que poderão orientar novas estratégias diagnósticas e terapêuticas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇA DO REFLUXO GASTRESOFÁGICO (DRGE)

2.2.1 Epidemiologia

A DRGE é uma das síndromes mais comuns na prática clínica e pode chegar a fragilizar o indivíduo, havendo em muitos casos a necessidade do tratamento através do uso de medicações, além de mudanças no estilo de vida e cirurgias invasivas (1 , 2).

Além de demonstrar efeitos indesejáveis significativos na qualidade de vida, a DRGE gera um ônus econômico e social expressamente significativo. Estudos realizados no Reino Unido (RU) estimaram que as aplicações de recursos demandados para DRGE são próximas de £ 760 milhões / ano naquela região, enquanto nos Estados Unidos da América (EUA) o custo com cuidados de saúde e a improdutividade devido à DRGE são estimadas em até US\$ 24 bilhões / ano (3-7).

Em 2005, *Dent et al.* (8) avaliou a prevalência de DRGE usando como definição a presença de pirose semanal e/ou regurgitação ácida diagnosticada por um médico. *El-Serag et al.* (9) em 2013 atualizou os dados mas não identificou nenhum estudo da África e os fatores de risco para DRGE também não foram completamente investigados. Enquanto *Nirwan, et. al.*, em 2020 (10) avaliou através de um estudo global a prevalência de DRGE através de uma meta-análise, incluindo os estudos disponíveis em bases de dados eletrônicas, inclusive as publicações previamente avaliadas na revisão sistemática de *El-Serag et al.* em 2013. A prevalência global de DRGE foi de aproximadamente 14% (figura 1), havendo uma variação de acordo com a região (12,88% na América Latina e no Caribe, 19,55% na América do Norte (figura 2) e (4,16% na China a 22,40% na Turquia). Para a interpretação dos resultados sobre a população mundial, utilizou-se o “*According to United Nations 2017 Revision of World Population Prospects*” (11), e estima-se então que o número de indivíduos que sofrem de DRGE globalmente é de 1,03 bilhão (10).

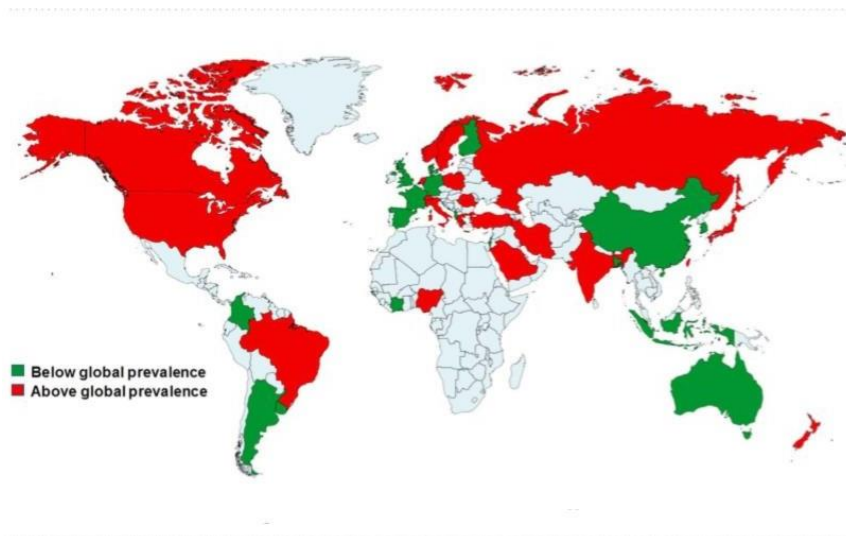


Figura 1. Distribuição da prevalência de DRGE de acordo com prevalência global. *Acesso em <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62795-1>*

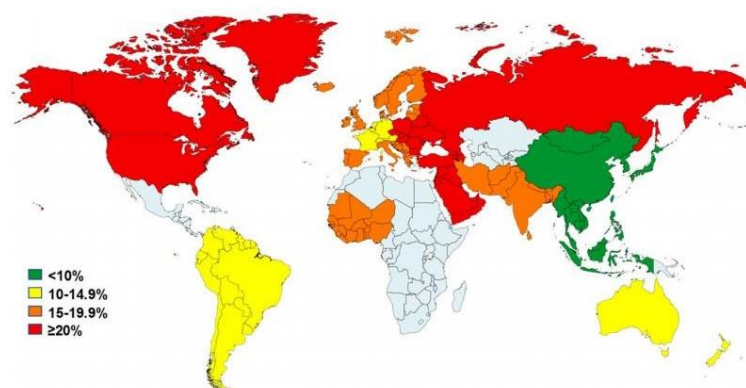


Figura 2. Distribuição da prevalência de DRGE de acordo com sub-regiões. (Northern America, South America, Northern Europe, Western Europe, Southern Europe, Eastern Europe, Western Africa, Western Asia, Southern Asia, Eastern Asia, South-eastern Asia, Australia & New Zealand). *Acesso em <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62795-1>*

2.2 OBESIDADE E DOENÇAS ESOFÁGICAS

A obesidade é definida pelo índice de massa corporal (IMC) maior que 30 kg/m²(12). O fenômeno obesidade tornou-se um dos maiores desafios de saúde pública no século XXI, com uma perspectiva epidêmica de que até cerca de 50% da população adulta mundial terá sobrepeso ou obesidade até 2030(13). A obesidade tem apresentado prevalência crescente e preocupante em diversas regiões do mundo (14). Estudos têm comprovado que esta condição associa-se a uma diversidade de morbidades (15), entre elas destaca-se as enfermidades do esôfago, em especial a DRGE, com *Odds Ratio* (OR) de 1,73 (16). A distribuição da gordura abdominal também tem sido associada a complicações da DRGE: OR de 1,87 para esofagite erosiva, 1,98 para Barrett, e 2,51 para adenocarcinoma de esôfago (17).

Em indivíduos obesos, estudos epidemiológicos sugerem que a prevalência de DRGE é consideravelmente maior do que na população de não obesos (18-20). Esta associação resulta de uma série de condições relacionadas a obesidade: a) hábitos alimentares refluxo-gênicos; b) aumento do gradiente pressórico gastroesofágico; c) ação pró-inflamatória resultante da liberação de mediadores neuro-humorais pela gordura visceral (21, 22); e d) extensão intra-esfincteriana da mucosa cárdica produtora de ácido em sujeitos com obesidade central (23).

Outros potenciais mecanismos encontram-se em estudo, incluindo a resposta do esôfago ao refluxo de conteúdo gástrico em obesos, e as interações do eixo cérebro-esôfago (24).

Neste contexto, tanto hiper quanto hipossensibilidade esofágica têm sido descritos em sujeitos com obesidade (25, 26). Recentemente, demonstrou-se a existência de fatores relacionados ao ECE e sua relação com percepção e modulação de pirose, utilizando-se IRMf para avaliar a resposta cerebral a estímulos viscerais em voluntários e pacientes com DRGE (27, 28). A IRMf tem sido usada para a avaliação das respostas cerebrais relacionadas à estimulação visceral (29). Do mesmo modo, foi possível distinguir também diferentes padrões de ativação cerebral em relação à localização e intensidade de resposta aos estímulos periféricos do ECE entre pacientes e sujeitos saudáveis. Ainda assim, estudos avaliando a resposta do ECE à perfusão de ácido no esôfago têm resultados controversos (30, 31).

A hipersensibilidade visceral é mais frequentemente relatada em pacientes com doenças gastrointestinais quando comparadas a indivíduos saudáveis (31). Acredita-se que a sensibilidade esofágica deve-se à complexa interação entre os nervos periféricos e espinhais, centros corticais superiores, via inibitória descendente e modulação psicológica desencadeada pelo estímulo (32, 33). *Lawal e cols* (34) chegaram a encontrar uma ativação cerebral aumentada à estimulação subliminar do esôfago em pacientes com síndrome do intestino irritável (SII), o que sugere que pelo menos parte da interpretação central do estímulo do eixo cérebro-intestino está relacionada a fatores não psicológicos.

Há evidências de que pacientes com dores crônicas processam a dor aguda de maneira diferente das pessoas saudáveis. Pacientes com dor crônica lombar (“backpain”), fibromialgia, SII e vestibulite vulvar, por exemplo, apresentam maior espectro de classificações de dor e respostas neurais quando expostos à dor por *estímulos experimentais* (34-38) e geralmente ativam áreas do cérebro relacionadas à dor, enquanto indivíduos saudáveis não percebem estes estímulos como dolorosos (34, 36, 38). Estes resultados validam que o “*sinal nociceptivo ascendente*” é amplificado em algum lugar ao longo das vias de transmissão da dor, em pacientes com dor crônica, embora isso não resulte necessariamente que o cérebro melhore ou aprimore a modulação e o processamento da dor.

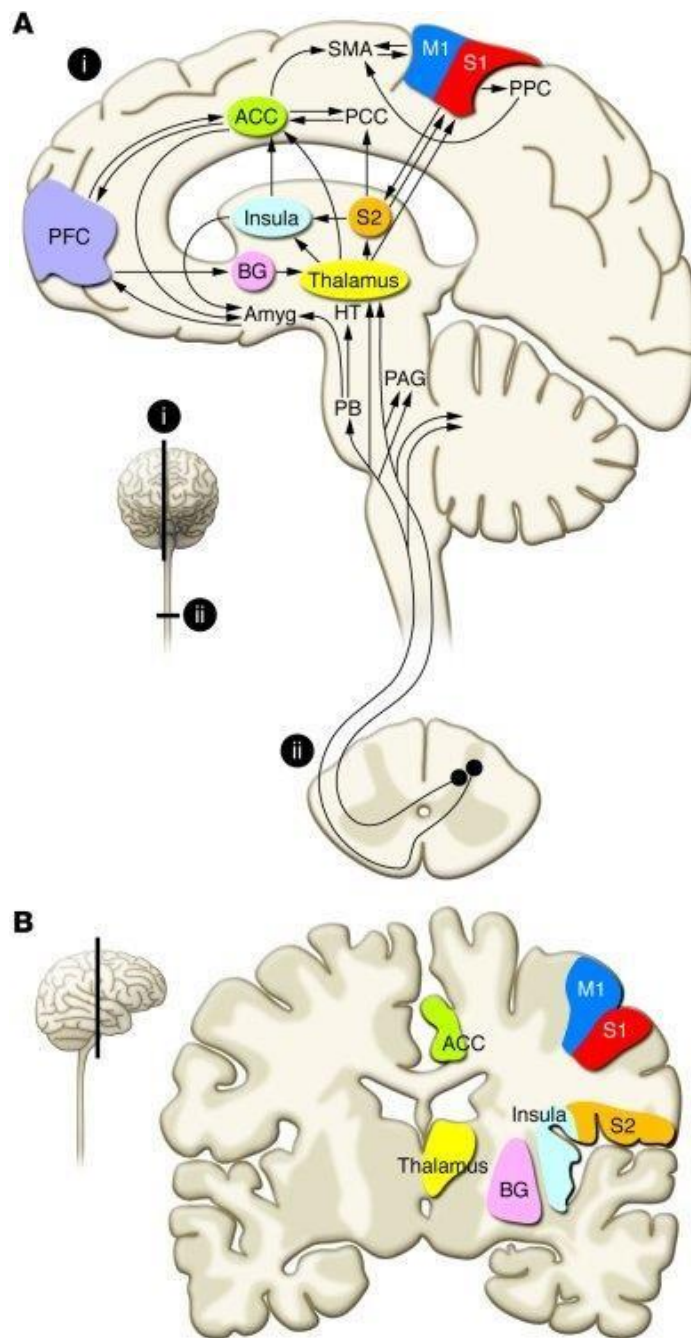


Figura 3. Rede neural de processamento da dor: aspectos descritivos, emocionais e cognitivos

Vias ascendentes da dor no cérebro humano. (A) Representação esquemática das vias ascendentes da dor e regiões cerebrais envolvidas no processamento da dor. (B) As regiões codificadas por cores sobrepostas a uma ressonância magnética anatômica (corte coronal). Vermelho, S1; laranja, S2; verde, ACC; azul claro, ínsula; amarelo, tálamo; roxo, PFC; azul escuro, córtex motor primário (M1). SMA, área motora suplementar; PCC, córtex cingulado posterior; BG, gânglios da base; HT, hipotálamo; Amyg, amígdala, PB, núcleos parabrachiais. *Adaptado de European Journal of Pain* (7). Extraído do site: <http://www.jci.org/articles/view/43498/figure/1>

A necessidade de ferramentas precisas e confiáveis para segmentar e quantificar também a distribuição de tecido adiposo (TA) no abdome, usando dados de imagem por ressonância magnética (IRM) ou tomografia computadorizada (TC), também tem se tornado cada vez mais importante, devido a crescente prevalência mundial de obesidade (39).

Existem evidências de diferenças funcionais entre a gordura subcutânea e a gordura visceral, e a individualização e quantificação desses compartimentos pelos métodos de imagem são úteis na construção do conhecimento sobre essas diferenças. A capacidade de determinar a distribuição de TA abdominal, como a relação de volume de TA subcutâneo (TAS) para TA visceral (TAV), é informativa na estratificação daqueles que são obesos, mas metabolicamente normais, *versus* aqueles indivíduos que possuem o peso normal, mas estão metabolicamente "em risco".

2.3 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA DO REFLUXO GASTROESOFÁGICO

A fisiopatologia da DRGE é complexa e envolve desde a falência da barreira anti-refluxo, situada na junção esofagogástrica (JEG), a resistência epitelial da mucosa esofágica e a resposta do eixo cérebro-esôfago (24, 40, 41). Os episódios de refluxo costumam ocorrer principalmente após as refeições, tanto pela maior frequência dos relaxamentos transitórios do esfíncter inferior do esôfago (EIE) quanto pelo aumento da pressão gástrica relacionada à presença de alimento no interior do estômago (42). Somando-se a isso, o estímulo da porção proximal do esôfago pode desencadear uma maior percepção de sintomas em comparação ao estímulo da porção distal (43). Recentemente estudos demonstraram a existência de fatores possivelmente relacionados ao ECE com ação na percepção e modulação dos sintomas provenientes do refluxo gastroesofágico (32). Mais especificamente, a conexão entre fatores psicológicos e a hipersensibilidade visceral foi demonstrada através da modificação estrutural, e maior percepção de sintomatologia com a exposição ao estresse agudo ou ansiedade (44-47).

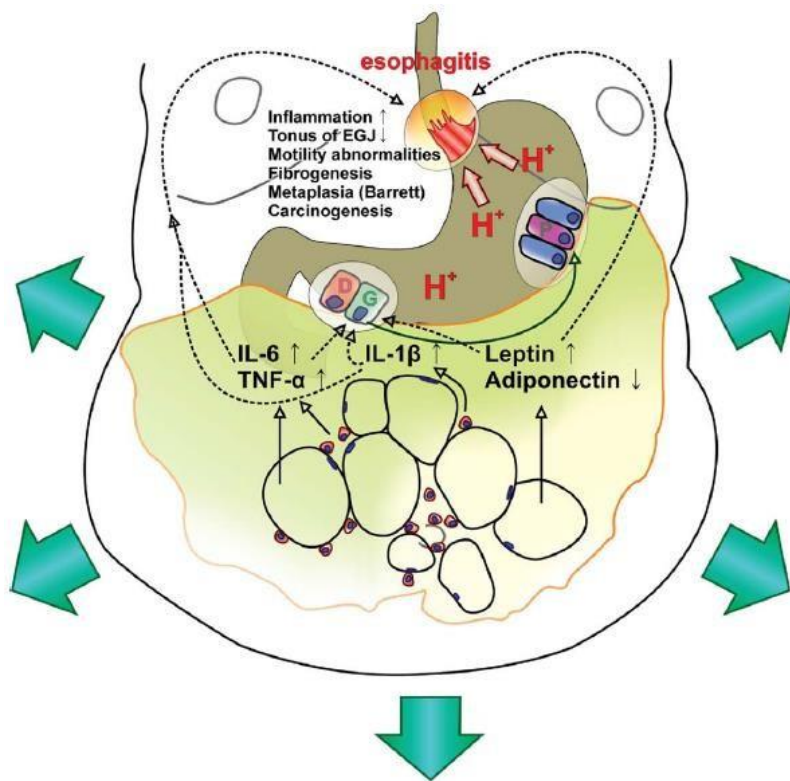


Figura 4. Efeitos do tecido adiposo visceral na JEG, iniciando-se pela hipersecreção gástrica para o desenvolvimento da esofagite de refluxo. Adipócitos e macrófagos alta quantidade de mediadores sistemicamente ativos, (adipo) citocinas. Leptina, TNF- α ou IL-6, podem afetar a produção de gastrina. Além disso, citocinas pró-inflamatórias (adipo) podem exacerbar e perpetuar a inflamação local na junção esofagogástrica (22).

2.4 CARACTERIZAÇÃO DA DRGE

A apresentação da DRGE é bastante variada, sendo clinicamente classificada como síndromes esofágicas, caracterizada pela presença de sintomas como pirose, regurgitação e dor torácica não cardíaca, e extra-esofágicas, apresentando sintomatologia atípica como tosse crônica, asma, laringite e erosões dentárias. Endoscopicamente a DRGE é categorizada em dois grupos:

i. DRGE erosiva, ou doença do refluxo erosiva (DRE), quando observa-se a presença de erosões na mucosa esofágica (48);

ii. DRGE não erosiva, ou doença do refluxo endoscopicamente negativa (DREN), quando o paciente possui sintomatologia compatível porém a endoscopia mostra-se normal

(49). De acordo com a pHmetria esofágica de 24 hs, o grupo DREN pode ser subclassificado em 3 fenótipos de DRGE: DREN verdadeiro, esôfago hipersensível e pirose funcional. Estes pacientes são os mais difíceis de serem abordados, tanto no diagnóstico como no tratamento.

Em face da diversidade clínica pela qual a DRGE apresenta-se, desde indivíduos com muitos sintomas e sem qualquer lesão esofágica, àqueles com complicações, tais como esôfago de Barrett, na ausência de sintomas, realizou-se tentativas da reprodução da pirose frente a instilação de ácido clorídrico (HCl) na mucosa esofágica de pacientes e voluntários. Este método trouxe informações valiosas para o entendimento da fisiopatologia da doença (50-52). Entretanto, o estudo da pirose apenas com estimulação ácida no esôfago permite avaliar somente a porção periférica da sintomatologia, sem considerar sua modulação cerebral e a influência psicológica acerca de sua percepção (53).

Nos últimos anos, várias técnicas dedicadas ao estudo das funções esofágicas foram desenvolvidas e ganharam uma popularidade crescente na prática clínica diária. Em particular, o monitoramento de impedância esofágica de 24 hs combinado à pHmetria (MI-pH 24h) (54, 55) e a manometria esofágica de alta resolução (56).

No momento, o melhor método para avaliar pacientes com refluxo é o MI-pH 24hs, que contribuiu para demonstrar a fisiopatologia heterogênea dos pacientes com DRGE. O desenvolvimento de novas aplicações de impedância são promissoras, como a mensuração da impedanciometria basal do esôfago, cujo valor é inversamente proporcional ao dano de integridade de mucosa (57). A monitoração do pH esofágico pode avaliar a resposta terapêutica e determinar a exposição do esôfago ao ácido (58).

2.5 SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC)

A avaliação da interação entre os estímulos viscerais e vias sensorio- motoras até o cérebro pode ser feita através da aquisição de exames de neuroimagem (29). Estudos recentes utilizaram o

advento da IRMf para avaliar a resposta cerebral a estímulos viscerais em voluntários e pacientes com DRGE (27). Além disso, foi possível distinguir diferentes padrões de ativação quanto à localização e intensidade da resposta cerebral entre pacientes e pessoas saudias. Contudo, estudos avaliando a resposta do ECE à perfusão esofágica de ácido são pouco conhecidos (32, 59).

As imagens obtidas com o exame de ressonância magnética funcional surgem com um vasto potencial para avaliar o ECE devido à sua alta resolução espacial e temporal, contribuindo substancialmente para elucidar mecanismos centrais envolvidos no processamento normal e alterado de estímulos viscerais, incluindo a percepção da dor visceral (59). A interação entre o esôfago e o sistema nervoso central (SNC) tem sido apontada como fator chave na geração de sintomas em pacientes com DRGE (32).

Hipersensibilidade visceral é mais comumente relatada em pacientes com doença gastrointestinal quando comparadas a indivíduos saudáveis (53). Acredita-se que contribua para a percepção de dor esofágica a complexa interação entre os nervos periférico e espinhal, centros corticais superiores, via inibitória descendente e modulação psicológica desencadeada pelo estímulo (32, 33).

Tentativas foram feitas para esclarecer os mecanismos de exacerbação da sensibilidade visceral usando várias técnicas neurofisiológicas e de imagem cerebral, incluindo a imagem por ressonância magnética (IRM). Foi relatado que o sistema límbico, que inclui a ínsula, o giro cingulado, amígdala, tálamo, hipotálamo e o córtex pré-frontal, participa do processamento de entradas sensoriais aferentes do esôfago (60, 61).

Os processos de aprendizado relacionados à dor são complexos e incluem aspectos sensoriais, motores, emocionais e cognitivos (62). Os estudos de imagem cerebral também revelaram recentemente a ativação do cerebelo relacionada a estímulos dolorosos em indivíduos saudáveis (63-65) e ativações cerebelares alteradas em pacientes com transtornos crônicos (14), incluindo dores viscerais crônicas, como a síndrome do intestino irritável (SII) (66).

Outra abordagem tem sido usada nos estudos de IRMf para analisar dados através de uma investigação de conectividade: em vez de avaliar a atividade relacionada à tarefa, esse método permite avaliar a inter-relação das redes neurais entre as diferentes áreas do cérebro (62-65). Descrito pela

primeira vez por *Biswal et al.* (67), as “Default Mode Network” (DMN) – Redes de Modo Padrão (RMP) são flutuações de baixa frequência no sinal da linha de base, o que representa conexões funcionais relacionadas às funções cognitivas normais e patológicas (68). Assim, a conectividade cerebral pode ser avaliada adicionalmente durante a execução de uma tarefa, especialmente em tarefas que não possuem um experimento específico, como a leitura. *Sun. et al.*(69) em seu estudo compara a atividade cerebral em pacientes com DRGE em relação ao grupo controle de indivíduos saudáveis (“baseline”), obtendo resultados anormais da atividade da rede de modo padrão (RMP) no grupo de pacientes com DRGE em relação aos controle, conforme resultados expressos na figura 5.

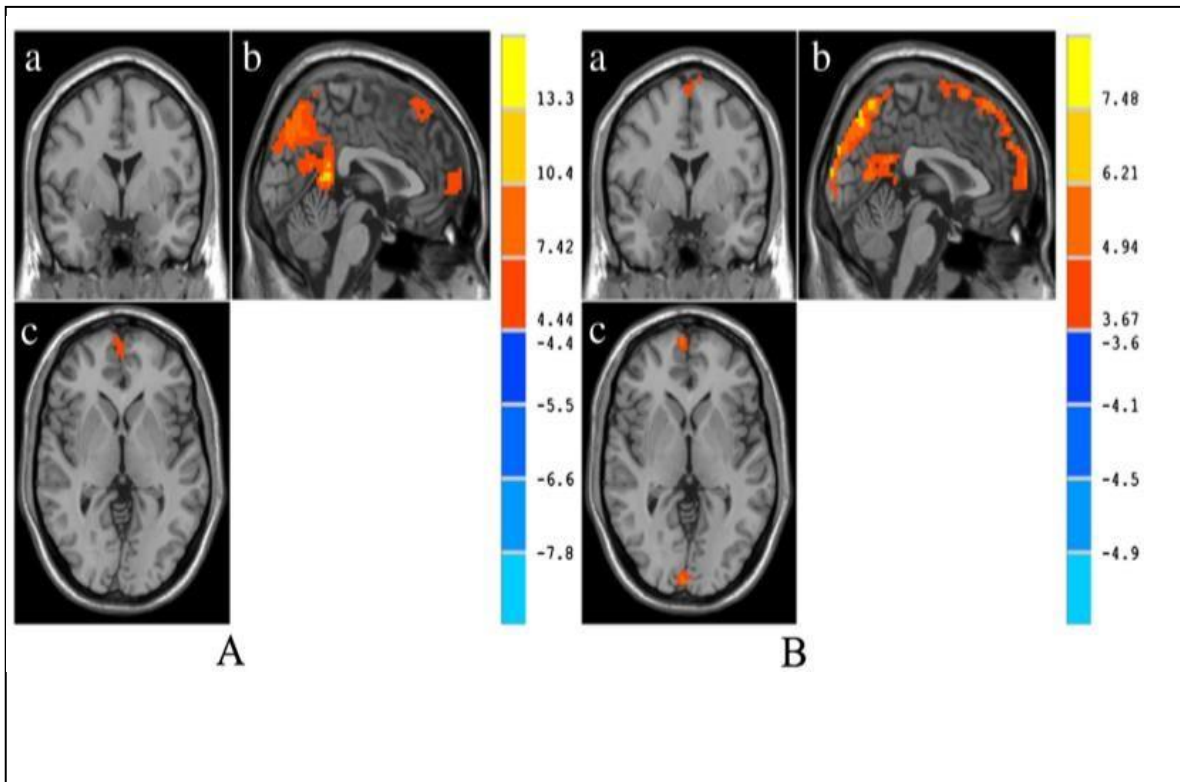


Figura 5. Atividades cerebrais em indivíduos saudáveis (A) e pacientes com DRGE (B). A cor fria representa as regiões cerebrais inferiores à média do cérebro, e a cor quente representa regiões cerebrais mais altas que a média do cérebro.

3 JUSTIFICATIVA

Pessoas com obesidade apresentam alta prevalência de DRGE. Já é consenso que a obesidade é fator de risco para DRGE, inclusive para suas formas complicadas como esofagite de refluxo e esôfago de Barrett/Adenocarcinoma. Em pacientes obesos, a DRGE pode se apresentar de forma silenciosa ou oligossintomática, mesmo na presença de esofagite de refluxo. Tal apresentação pode resultar de alterações na percepção nociceptiva do esôfago frente ao refluxo de conteúdo gástrico. No entanto, há estudos que indicam um estado de hipersensibilidade esofágica em obesos à perfusão de ácido. Assim, os poucos estudos existentes sobre a sensibilidade esofágica na obesidade apresentam resultados controversos. A recente disponibilidade de exames de imagem capazes de mostrar a resposta cerebral a diversos estímulos viscerais está oportunizando novas descobertas na fisiopatologia da DRGE.

Assim, o presente estudo justifica-se pela necessidade de avanços no entendimento da percepção esofágica em obesos, especificamente no que tange à interação cérebro-esôfago. Progressos nesta área poderão orientar novas estratégias diagnósticas e terapêuticas.

4 QUESTÃO DE PESQUISA

A sensibilidade do esôfago de obesos ao estímulo ácido é alterada em relação aos não obesos? Se sim, esta condição é restrita aos obesos com DRGE ou já manifesta em obesos normais? Se alterada, caracteriza-se por estado de hipo ou hipersensibilidade? Tal sensibilidade visceral modificada em obesos poderia estar associada a alterações na integridade da mucosa esofágica e na resposta cerebral frente ao estímulo ácido? Por fim, a quantidade de gordura visceral poderia ser um fator determinante na percepção esofágica em obesos?

5 HIPÓTESES

A sensibilidade esofágica ao estímulo ácido em obesos é diferente em comparação com não obesos, independentemente da ausência ou presença de DRGE. Espera-se também que a integridade da mucosa esofágica esteja reduzida em obesos com DRGE, e que este dano possa estar relacionado com a quantidade de gordura visceral.

6 OBJETIVOS

6.1 GERAL

Avaliar o eixo cérebro-esôfago em obesos no contexto da doença do refluxo gastresofágico.

6.2 ESPECÍFICOS

Capítulo 1 (Estudo transversal - Artigo 1)

Avaliar o eixo cérebro-esôfago em obesos com e sem sintomas sugestivos de DRGE utilizando imagem por ressonância magnética funcional do cérebro, impedanciometria esofágica basal e distribuição da gordura abdominal.

Capítulo 2 (Estudo transversal - Artigo 2)

Avaliar o eixo cérebro-esôfago através da percepção de pirose e resposta cerebral à perfusão esofágica de ácido em obesos e não obesos, controlando para sintomas sugestivos de DRGE.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nwokediuko SC. Current trends in the management of gastroesophageal reflux disease: a review. *ISRN gastroenterology*. 2012;2012:1–11
2. Ofman JJ. The economic and quality-of-life impact of symptomatic gastroesophageal reflux disease. *The American journal of gastroenterology*. 2003;98(3):S8-S14.
3. Mason J, Hungin A. gastro-oesophageal reflux disease—the health economic implications. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2005;22:20-31.
4. Kubo A, Block G, Quesenberry CP, Buffler P, Corley DA. Dietary guideline adherence for gastroesophageal reflux disease. *BMC gastroenterology*. 2014;14(1):144.
5. Brook R, Wahlqvist P, Kleinman N, WALLANDER MA, Campbell S, Smeeding J. Cost of gastro-oesophageal reflux disease to the employer: a perspective from the United States. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2007;26(6):889-98.
6. Sandler RS, Everhart JE, Donowitz M, Adams E, Cronin K, Goodman C, et al. The burden of selected digestive diseases in the United States. *Gastroenterology*. 2002;122(5):1500-11.
7. American Gastroenterological Association. *The Burden of Gastrointestinal Diseases*. Bethesda, Md: American Gastroenterological Association; 2001: 1–86. 2004.
8. Dent J, El-Serag H, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*. 2005;54(5):710-7.
9. El-Serag HB, Sweet S, Winchester CC, Dent J. Update on the epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut*. 2014;63(6):871-80.
10. Nirwan JS, Hasan SS, Conway BR, Ghori MU. Global Prevalence and Risk Factors of Gastro-oesophageal Reflux Disease (GORD): Systematic Review with Meta-analysis. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-14.
11. UN Population Division *World Population Prospects: the 2017 revision, key findings and advance tables*. United Nations, New York, 2017.
12. Group WHOW. The problem of overweight and obesity. *Bulletin of the World Health Organization*. 2000:5-37.
13. Kelly T, Yang W, Chen C-S, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*. 2008;32(9):1431-7.
14. Ogden CL, Carroll MD, Curtin LR, McDowell MA, Tabak CJ, Flegal KM. Prevalence of overweight and obesity in the United States, 1999-2004. *Jama*. 2006;295(13):1549-55.
15. Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *Jama*. 1999;282(16):1523-9.

16. Eusebi LH, Ratnakumaran R, Yuan Y, et al. Global prevalence of, and risk factors for, gastroesophageal reflux symptoms: a meta-analysis. *Gut*. 2017.
17. Singh S, Sharma AN, Murad MH, Buttar NS, El-Serag HB, Katzka DA, et al. Central adiposity is associated with increased risk of esophageal inflammation, metaplasia, and adenocarcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2013;11(11):1399-412. e7.
18. El-Serag HB, Graham DY, Satia JA, Rabeneck L. Obesity is an independent risk factor for GERD symptoms and erosive esophagitis. *American Journal of Gastroenterology*. 2005;100(6):1243-50.
19. Fisher BL, Pennathur A, Mutnick JL, Little AG. Obesity correlates with gastroesophageal reflux. *Digestive diseases and sciences*. 1999;44(11):2290-4.
20. Iovino P, Angrisani L, Galloro G, Consalvo D, Tremolaterra F, Pascariello A, et al. Proximal stomach function in obesity with normal or abnormal oesophageal acid exposure. *Neurogastroenterology & Motility*. 2006;18(6):425-32.
21. Tilg H, Moschen AR. Visceral adipose tissue attacks beyond the liver: esophagogastric junction as a new target. *Gastroenterology*. 2010;139(6):1823-6.
22. Rubenstein JH, Morgenstern H, McConell D, Scheiman JM, Schoenfeld P, Appelman H, et al. Associations of diabetes mellitus, insulin, leptin, and ghrelin with gastroesophageal reflux and Barrett's esophagus. *Gastroenterology*. 2013;145(6):1237-44. e5.
23. Robertson EV, Derakhshan MH, Wirz AA, Lee YY, Seenan JP, Ballantyne SA, et al. Central obesity in asymptomatic volunteers is associated with increased intrasphincteric acid reflux and lengthening of the cardiac mucosa. *Gastroenterology*. 2013;145(4):730-9.
24. Lee YY, McColl KE. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2013;27(3):339-51.
25. Mercer C, Wren S, DaCosta L, Beck I. Lower esophageal sphincter pressure and gastroesophageal pressure gradients in excessively obese patients. *Journal of medicine*. 1987;18(3-4):135-46.
26. Ortiz V, Ponce M, Fernández A, Martínez B, Ponce JL, Garrigues V, et al. Value of heartburn for diagnosing gastroesophageal reflux disease in severely obese patients. *Obesity*. 2006;14(4):696-700.
27. Kern M, Hofmann C, Hyde J, Shaker R. Characterization of the cerebral cortical representation of heartburn in GERD patients. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2004;286(1):G174-G81.
28. Lawal A, Kern M, Sanjeevi A, Antonik S, Mepani R, Rittmann T, et al. Neurocognitive processing of esophageal central sensitization in the insula and cingulate gyrus. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2008;294(3):G787-G94.

29. Mayer EA, Labus J, Aziz Q, Tracey I, Kilpatrick L, Elsenbruch S, et al. Role of brain imaging in disorders of brain–gut interaction: a Rome Working Team Report. *Gut*. 2019;68(9):1701-15.
30. Mulak A. Testing of visceral sensitivity. *Journal of physiology and pharmacology*. 2004;55:55-72.
31. Hobson A, Aziz Q. Brain imaging and functional gastrointestinal disorders: has it helped our understanding? *Gut*. 2004;53(8):1198-206.
32. Fass R, Tougas G. Functional heartburn: the stimulus, the pain, and the brain. *Gut*. 2002;51(6):885-92.
33. Fass R, Naliboff B, Higa L, Johnson C, Kodner A, Munakata J, et al. Differential effect of long-term esophageal acid exposure on mechanosensitivity and chemosensitivity in humans. *Gastroenterology*. 1998;115(6):1363-73.
34. Lawal A, Kern M, Sidhu H, Hofmann C, Shaker R. Novel evidence for hypersensitivity of visceral sensory neural circuitry in irritable bowel syndrome patients. *Gastroenterology*. 2006;130(1):26-33.
35. Derbyshire S, Jones A, Creed F, Starz T, Meltzer C, Townsend D, et al. Cerebral responses to noxious thermal stimulation in chronic low back pain patients and normal controls. *Neuroimage*. 2002;16(1):158-68.
36. Gracely RH, Petzke F, Wolf JM, Clauw DJ. Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis & Rheumatism*. 2002;46(5):1333-43.
37. Naliboff BD, Derbyshire SW, Munakata J, Berman S, Mandelkern M, Chang L, et al. Cerebral activation in patients with irritable bowel syndrome and control subjects during rectosigmoid stimulation. *Psychosomatic medicine*. 2001;63(3):365-75.
38. Pukall CF, Strigo IA, Binik YM, Amsel R, Khalifé S, Bushnell MC. Neural correlates of painful genital touch in women with vulvar vestibulitis syndrome. *Pain*. 2005;115(1-2):118-27.
39. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Curtin LR. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2008. *Jama*. 2010;303(3):235-41.
40. Penagini R, Carmagnola S, Cantu P. Gastro-oesophageal reflux disease–pathophysiological issues of clinical relevance. *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 2002;16:65-71.
41. Tack J, Pandolfino JE. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology*. 2018;154(2):277-88.
42. Fass R. The pathophysiological mechanisms of GERD in the obese patient. *Digestive diseases and sciences*. 2008;53(9):2300-6.
43. Bredenoord AJ, Weusten BL, Curvers WL, Timmer R, Smout AJ. Determinants of perception of heartburn and regurgitation. *Gut*. 2006;55(3):313-8.

44. Farré R, De Vos R, Geboes K, Verbecke K, Berghe PV, Depoortere I, et al. Critical role of stress in increased oesophageal mucosa permeability and dilated intercellular spaces. *Gut*. 2007;56(9):1191-7.
45. Söderholm JD. Stress-related changes in oesophageal permeability: filling the gaps of GORD? *Gut*. 2007;56(9):1177-80.
46. Van Oudenhove L, Coen SJ, Aziz Q. Functional brain imaging of gastrointestinal sensation in health and disease. *World journal of gastroenterology: WJG*. 2007;13(25):3438-45.
47. Sharma A, Van Oudenhove L, Paine P, Gregory L, Aziz Q. Anxiety increases acid-induced esophageal hyperalgesia. *Psychosomatic medicine*. 2010;72(8):802-9.
48. Lundell L, Dent J, Bennett J, Blum A, Armstrong D, Galmiche J, et al. Endoscopic assessment of oesophagitis: clinical and functional correlates and further validation of the Los Angeles classification. *Gut*. 1999;45(2):172-80.
49. Winter JW, Heading RC. The nonerosive reflux disease–gastroesophageal reflux disease controversy. *Current opinion in gastroenterology*. 2008;24(4):509-15.
50. Howard P, Maher L, Pryde A, Heading R. Symptomatic gastro-oesophageal reflux, abnormal oesophageal acid exposure, and mucosal acid sensitivity are three separate, though related, aspects of gastro-oesophageal reflux disease. *Gut*. 1991;32(2):128-32.
51. Nagahara A, Miwa H, Mino T, Hojo M, Kawabe M, Osada T, et al. Increased esophageal sensitivity to acid and saline in patients with nonerosive gastro-esophageal reflux disease. *Journal of clinical gastroenterology*. 2006;40(10):891-5.
52. Matthews PJ, Knowles CH, Chua YC, Delaney C, Hobson AR, Aziz Q. Effects of the concentration and frequency of acid infusion on the development and maintenance of esophageal hyperalgesia in a human volunteer model. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2008;294(4):G914-G7.
53. Bradette M, Pare P, Douville P, Morin A. Visceral perception in health and functional dyspepsia. *Digestive diseases and sciences*. 1991;36(1):52-8.
54. Zentilin P, Dulbecco P, Savarino E, Giannini E, Savarino V. Combined multichannel intraluminal impedance and pH-metry: a novel technique to improve detection of gastro-oesophageal reflux: literature review. *Digestive and Liver Disease*. 2004;36(9):565-9.
55. Sifrim D, Fornari F. Esophageal impedance–pH monitoring. *Digestive and Liver Disease*. 2008;40(3):161-6.
56. Savarino E, de Bortoli N, Bellini M, Galeazzi F, Ribolsi M, Salvador R, et al. Practice guidelines on the use of esophageal manometry–A GISMAD-SIGE-AIGO medical position statement. *Digestive and Liver Disease*. 2016;48(10):1124-35.
57. Farré R, Blondeau K, Clement D, Vicario M, Cardozo L, Vieth M, et al. Evaluation of oesophageal mucosa integrity by the intraluminal impedance technique. *Gut*. 2011;60(7):885-92.

58. Abell T, McCallum R, Hocking M, Koch K, Abrahamsson H, LeBlanc I, et al. Gastric electrical stimulation for medically refractory gastroparesis. *Gastroenterology*. 2003;125(2):421-8.
59. Mayer EA, Aziz Q, Coen S, Kern M, Labus J, Lane R, et al. Brain imaging approaches to the study of functional GI disorders: a Rome working team report. *Neurogastroenterology & Motility*. 2009;21(6):579-96.
60. Aziz Q, Andersson J, Valind S, Sundin A, Hamdy S, Jones A, et al. Identification of human brain loci processing esophageal sensation using positron emission tomography. *Gastroenterology*. 1997;113(1):50-9.
61. Hobson AR, Aziz Q. Brain processing of esophageal sensation in health and disease. *Gastroenterology Clinics*. 2004;33(1):69-91.
62. Senkowski D, Höfle M, Engel AK. Crossmodal shaping of pain: a multisensory approach to nociception. *Trends in cognitive sciences*. 2014;18(6):319-27.
63. Helmchen C, Mohr C, Erdmann C, Petersen D, Nitschke M. Differential cerebellar activation related to perceived pain intensity during noxious thermal stimulation in humans: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience letters*. 2003;335(3):202-6.
64. Moulton EA, Schmahmann JD, Becerra L, Borsook D. The cerebellum and pain: passive integrator or active participator? *Brain research reviews*. 2010;65(1):14-27.
65. Moulton EA, Elman I, Pendse G, Schmahmann J, Becerra L, Borsook D. Aversion-related circuitry in the cerebellum: responses to noxious heat and unpleasant images. *Journal of neuroscience*. 2011;31(10):3795-804.
66. Derbyshire SW. A systematic review of neuroimaging data during visceral stimulation. *The American journal of gastroenterology*. 2003;98(1):12-20.
67. Biswal B, Zerrin Yetkin F, Haughton VM, Hyde JS. Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar MRI. *Magnetic resonance in medicine*. 1995;34(4):537-41.
68. Hacker CD, Laumann TO, Szrama NP, Baldassarre A, Snyder AZ, Leuthardt EC, et al. Resting state network estimation in individual subjects. *Neuroimage*. 2013;82:616-33.
69. Sun H, Chen Y, Zhao X, Wang X, Jiang Y, Wu P, et al. Abnormal activity of default mode network in GERD patients. *BMC neuroscience*. 2013;14(1):69.

CAPÍTULO 1 - ARTIGO 1

(para submissão à revista Obesity Surgery, FI: 3.758 – A2)

Brain-esophagus interactions assessed by functional brain imaging, esophageal impedance baseline and abdominal fat distribution in obese with and without heartburn

Marcelo Ribeiro^{1,2}; Ricardo Bernardi Soder³; Cassiano Mateus Forcelini⁴; Daniel Navarini⁴; Fernando Fornari^{1,4,5}

¹Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastreterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS; ²Clínica KOZMA, Passo Fundo-RS; ³Instituto do Cérebro, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS; ⁴Faculdade de Medicina, Universidade de Passo Fundo; ⁵Faculdade de Odontologia, Programa de Pós- Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo- RS, Brazil.

Corresponding author: Fernando Fornari, PhD, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, BR285, São José, CEP 99052-900, Passo Fundo-RS, Brazil, Phone: +55.54.33168395, E-mail: FernandoFornari@gmail.com

Short title: Brain-esophagus axis in obese

Financial disclosure: This study was partially funded by Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq nº 473004/2012-7).

Conflicts of interest statement: None.

ABSTRACT

Objectives: In obese subjects with and without heartburn, we assessed: i. The brain responses to esophageal acid perfusion during functional brain imaging; ii. Esophageal impedance baseline before and after acid perfusion; and iii. Abdominal fat distribution. **Methods:** Twenty-six participants with obesity (body mass index > 30 kg/m²) were classified according to presence/absence of heartburn. They underwent functional magnetic resonance imaging (fMRI) of the brain combined with esophageal perfusion of water (5 min, pH 6.5) and acid (5 min, pH 1.5). Esophageal impedance baseline was determined immediately before and after fMRI, followed by tomographic quantification of the abdominal fat area. **Results:** There were 17 obese with heartburn (59% men, 38.2 years old, 33.9 kg/m²) and 9 without heartburn (44% men, 42.6 years old, 32.6 kg/m²). Brain imaging was available for 25 participants, and esophageal impedance and abdominal fat for 22. Before fMRI, esophageal impedance baseline was lower in obese with heartburn than in obese without heartburn [median (interquartile range): 1187 Ω (956 – 1630) vs. 1890 Ω (1547 – 2137); P = 0.025]. After acid perfusion, esophageal impedance baseline decreased in obese with heartburn (from 1187 to 899 Ω ; P = 0.011) and was lower in this group than in obese without heartburn [899 Ω (605 – 1158) vs. 1614 Ω (1122 – 2058); P = 0.001]. fMRI task-residual analysis showed that obese with heartburn presented higher functional connectivity in several brain regions than obese without heartburn. Abdominal fat did not differ between obese with and without heartburn either for total (72.8 \pm 4.4% vs. 70.3 \pm 6.0%; P = 0.280), subcutaneous (42.2 \pm 9.0% vs. 37.4 \pm 9.0%; P = 0.226) or visceral compartments (30.6 \pm 7.9% vs. 33.0 \pm 7.8%; P = 0.484). **Conclusions:** In patients with obesity, the brain-esophagus axis seems to be disrupted both centrally with higher functional brain connectivity, and peripherally with decreased esophageal mucosa integrity, in the presence of heartburn.

Key words: Abdominal fat; esophageal impedance; GERD; heartburn; obesity.

INTRODUCTION

Obesity is a well-known risk factor for gastroesophageal reflux disease (GERD) (1, 2). In the most recent estimate, GERD manifested by weekly heartburn affects approximately 13% of the global population (3). In obese people, the prevalence of GERD seems to be proportional to the body mass index (BMI): 27% in the range between 25 and 30 kg/m², and 50% with BMI above 30 kg/m² (4).

The pathophysiology of GERD is based on three pillars: exposure to reflux, epithelial resistance and visceral sensitivity (5). Obesity clearly acts on the pillar “exposure to reflux”, both due to the increased pressure gradient between abdomen and thorax and the higher incidence of sliding hiatal hernia (6-8). Epithelial resistance is represented by the integrity of the esophageal mucosa, which can be damaged by the various aggressive components of the duodenogastroesophageal reflux (9, 10). In clinical research, esophageal mucosa integrity can be estimated by esophageal impedance baseline, with low impedance indicating mucosal damage (11). The third pillar, visceral sensitivity, is based on the interactions of the brain-esophagus axis, a topic of great interest today (12). Functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been used to assess the brain-esophagus axis and the relationship with perception of heartburn in healthy volunteers and patients with GERD (13, 14). This tool allows both task analysis as a response to esophageal acid stimulation and assessment of task- residual connectivity (15). However, studies on visceral sensitivity and epithelial resistance are scarce in obese subjects (16, 17).

Changes in abdominal fat amount and distribution have been linked to GERD. It is known that abdominal fat follows a balance between the subcutaneous and visceral compartments. The predominant accumulation in the subcutaneous characterizes the “gynoid or “pear” body habitus, whereas visceral predominance characterizes the “android or apple” type (18). Imaging procedures such as tomography and resonance can now demonstrate the patterns of abdominal fat accumulation, in addition to anthropometric parameters such as BMI and waist circumference (19). Several studies have suggested that visceral accumulation of abdominal fat is a risk factor for GERD (20-24). Many mechanisms might be involved, including mechanical aspects leading to increased exposure to reflux

followed by proinflammatory signals derived from the adipose visceral tissue (25). However, in patients with morbid obesity, the occurrence of GERD symptoms did not depend on visceral fat accumulation (26). We hypothesized that obese subjects with heartburn differ from obese without heartburn regarding brain-esophagus axis, basal esophageal impedance and abdominal fat distribution. Therefore, the aims of this study were to assess: i. The brain responses to esophageal acid perfusion during functional brain imaging; ii. Esophageal impedance baseline before and after acid perfusion; and iii. Abdominal fat distribution.

METHODS

Study design

This was a prospective, cross-sectional study involving obese participants (BMI ≥ 30 kg/m²) with and without heartburn.

Setting

Participants were examined at Endopasso Clinic, Passo Fundo, for upper digestive endoscopy and at Kozma Clinic, Passo Fundo, for acquisition of clinical data and imaging procedures. Functional magnetic resonance imaging were analyzed at Brain Institute, PUCRS, Porto Alegre.

Participants

Patients with heartburn and obesity were invited to participate after undergoing upper digestive endoscopy. Obese subjects without GERD symptoms were recruited through local advertising (printed and verbal), disseminated in the hospital and academic environments near the clinics. Inclusion criteria for all participants were adults (\Rightarrow 18 years old), right-handed, able to undergo MRI examination (absence of claustrophobia, metallic components in the head and neck or other type of absolute or relative contraindication), having a BMI greater than 30 kg/m² (and preferentially lower than 40 kg/m²), an intact upper digestive tract (no surgery), and no use of proton pump inhibitors in the last 30 days. Obese with GERD had to have troublesome heartburn in the last 4 weeks at least. Obese subjects without heartburn denied any gastrointestinal symptoms and had a normal esophageal mucosa (or at maximum esophagitis grade A of Los Angeles) at endoscopy performed prospectively (27). The sample size was 12 participants per group, based on recommendation published in specialized

literature (28).

The study was approved by the ethical committee of the University of Passo Fundo (number 323/2011), and followed the rules of the Helsinki Declaration. All participants signed an informed consent before entry in the study.

Upper digestive endoscopy

Endoscopy was performed after an overnight fasting, with conscious sedation (endovenous Midazolam and Fentanyl). All the procedures were carried out by the same endoscopists, using a video-endoscope Olympus (GIF 170, Japan). The procedure focused on the description esophageal abnormalities, including reflux esophagitis according to the Los Angeles classification (29), as well as the presence of hiatal hernia.

Clinical data

After checking clinical data (demographic, BMI, medications and history of systemic illness and surgeries), the participants replied to the following questionnaires: i. GERD symptoms (30), able to generate a total score ranging between 0 (no symptom) and 50 (incapacitating symptoms), with the first question “how bad is your heartburn” meaning troublesome symptom with a score 2 or more in a six level scale; ii. Beck depression inventory (31), with a cut-off ≥ 10 for defining the presence of mild depression; and iii. Hamilton anxiety scale (32), with a threshold ≥ 21 for defining the presence of mild anxiety.

Esophageal impedance baseline

Impedance of the distal esophagus was performed immediately before and after the fMRI, with a portable impedance-pH recorder (Sandhill Scientific, Inc.; Highlands Ranch, CO, USA). After

calibration in pH 4.0 and 7.0 solutions, the catheter was inserted transnasally and positioned in the stomach. A pH mapping of the gastroesophageal junction was carried out to determine the pH turning point, as described elsewhere (33). The catheter was positioned in the distal esophagus with the pH sensor 5 cm above the pH turning point. The participant was monitored for 5 minutes while quiet in a sitting position, both before and after the fMRI. Impedance data was analyzed by a researcher blinded to clinical data, using the software BioView Analysis (Sandhill Scientific Inc.). Impedance was calculated in ohms (34), considering the impedance tracing located 5 cm above the pH turning point.

Functional magnetic resonance imaging of the brain

Study protocol

Magnetic resonance (MR) images were acquired at Clínica Kozma (Passo Fundo, RS, Brazil) using a 1.5 Tesla Magnetom Avanto (Siemens AG, Munich, Germany), equipped with a standard eight-channel head coil. High-resolution tridimensional anatomic images were obtained from 176 sagittal spoiled gradient recalled sequence slices with a voxel size of 1.0 x

1.0 x 1.0 mm, for further co-registration with functional images. For functional acquisition, echo planar images were obtained in a mosaic composed by 36 axial slices of 64 x 64 pixels over a 220 mm field of view, with a voxel size of 3.0 x 3.0 x 3.75mm, repetition time (TR) of 4270ms, echo time (TE) of 50ms.

Participants underwent an MRI session consisting of a three-dimensional anatomical mapping (4 to 10 minutes), followed by functional image capture composed of two periods (total of 10 minutes): esophageal perfusion with water (1 ml/min, pH 6.5) during five minutes, and esophageal perfusion with acidic solution (1 ml/min, pH 1.5) for five minutes. For this, a mono-lumen catheter was inserted trans-nasally and positioned at 5cm proximally to the lower esophageal sphincter according to previously mapped pH turning point (33). The examinations were performed after a four-hour fasting period.

MRI preprocessing and first-level analysis

MRI functional images were preprocessed using FMRIB Software Library (FSL) (35). Brain extraction was performed using Brain Extraction Tool (BET) (36). After that, functional data preprocessing was carried out using the FEAT program standard pipeline for first-level analysis (37). Data underwent motion correction, slice timing correction and Gaussian kernel smoothing full width at half maximum (FWHM) of 4.0 mm. Functional data were co-registered with subject respective T1 anatomical image. Anatomical data was registered in standard MNI152 space, using FLIRT with 12 degrees of freedom and the resulting transformation matrix was applied to warp co-registered functional data into standardized space. We then modeled task time series with a general linear model (GLM) within FEAT (38), modeling HRF response assuming a sinusoidal function for water and acid perfusion effects on signal variance.

Task-residual functional connectivity (trFC analysis)

After first-level analysis, the resulting residuals (effects not explained by task), underwent independent component analysis (ICA) carried out with MELODIC (15). ICA analysis decomposed each participant functional data into spatial and temporal components, and concatenated all subjects components using Multi-session temporal concatenation to generate group-spatial-maps. Non-noise related components of interest were then selected according to a functional network atlas (39). From the group selected components we created masks using a threshold of $z > 3$ that were further be utilized in group comparisons.

Statistical analysis

Group comparisons between subjects for task data, was carried out using FLAME1 (40) part of FEAT

for higher-level analysis, which uses mixed effects modelling to estimate signal parameters. We account for heartburn status as a contrast in our task model, cluster correction for multiple comparisons were then performed, using a threshold of $z > 2.3$. Task-residual functional connectivity group comparisons were carried out in FSL using dual regression and the program randomise. First, group-spatial-maps were regressed for each specific subject time series, after it regresses those time series into the same 4D data to generate subject-specific spatial maps. Eventually, randomise was used to compare groups. Data was fitted by two different GLMs. First we used a simple contrast to compare patients with heartburn to controls not accounting for possible confounders. On our second model, we have added mean centered age to control the comparisons for age. Randomise was carried out using 10000 permutations, and Threshold-Free Cluster Enhancement (TFCE) for multiple comparisons, p-value < 0.001 for family-wise error corrected (FWE-corrected) clusters was considered significant.

Quantification of abdominal fat

Abdomen images were acquired using a Toshiba tomography (multi slice with 64 channels, Tokyo, Japan), without contrast. A 10 mm slice was obtained at the level of the third-fourth lumbar vertebrae (L3-L4), as it is thought to represent the limit of the upper abdomen and is not influenced by liver or adipose tissue from the buttocks (41, 42). The selected image was saved in TIFF format. A researcher blinded to clinical data analyzed the TIFF images using ImageJ software (rsbweb.nih.gov/ij). Abdominal fat was categorized in visceral fat area (VFA) and subcutaneous fat area (SFA) through manual division, which was accomplished by drawing a line following the abdominal wall to separate extra and intra-abdominal compartments. A VFA/SFA index was calculated.

Statistical analysis

Quantitative data are presented as mean and standard deviation or when otherwise specified. These

were analyzed with Student's t test (or Mann-Whitney) according to Gaussian (or abnormal) distribution. Before-after analysis of esophageal impedance baseline was performed with paired t test. Qualitative data were described with absolute and relative frequencies and analyzed using chi-square or Fisher's exact test. The software GraphPad Prism version 5 was used for data analysis. The P value indicative of significance was <0.05 .

RESULTS

Participants

A total of 26 participants were enrolled in the study. There were 17 obese with heartburn and 9 obese without heartburn (Table 1). Brain imaging was available for 25 participants (fMRI artifact in one participant without heartburn), and esophageal impedance and abdominal fat quantification for 22 (four participants with heartburn denied to perform these procedures).

Table 1. Characteristics of the participants (n = 26).

	With heartburn n = 17	Without heartburn n = 9	P
Women, n (%)	8 (47)	5 (55)	0.999
Age, mean \pm SD*	38.2 \pm 9.6	42.5 \pm 10.5	0.302
BMI in Kg/m ² , mean (range)	33.9 (30.4-41.6)	32.6 (30.1-36.9)	0.263
GERD symptom score, median (IQR**)	12 (6 – 19)	2 (0.5 – 5.5)	0.001
Reflux esophagitis, no/yes (LA† A, B)	9/8 (5,3)	8/1 (1,0)	0.097
Sliding hiatal hernia, n (%)	5 (29)	1 (11)	0.380
Depression (score \geq 10), n (%)	4 (24)	3 (33)	0.661
Anxiety score, (score \geq 21), n (%)	5 (29)	0 (0)	0.128

*Standard deviation; **Interquartile range 25%-75%; †Los Angeles classification.

Women and men had a balanced distribution in the groups, with an average age close to 40 years. There was no statistical difference regarding gender, age and BMI distribution between obese with and without heartburn.

Due to entry criteria, obese with heartburn scored significantly higher for the GERD symptom questionnaire than obese without heartburn. Mild to moderate reflux esophagitis (Los Angeles A and

B) was found in 47% of obese with heartburn, while the other patients had normal esophageal mucosa. Only one out of 9 participants without heartburn showed mild reflux esophagitis (grade A). Hiatal hernia affected approximately 30% and 10% of the participants with and without heartburn, respectively.

The prevalence of depression was similar between groups, identified in a quarter of obese with heartburn and in a third of obese without heartburn. Anxiety was found in 29% of obese with heartburn and in no participant without heartburn, with no significant difference.

Esophageal impedance baseline

Impedance data were available for 22 participants (13 with heartburn and 9 without heartburn), as shown in Table 2. Before fMRI, impedance baseline was significantly lower in obese with heartburn than in obese without heartburn (Figure 1). After fMRI with water and acid perfusion, esophageal impedance baseline decreased significantly in obese with heartburn. Obese without heartburn showed a trend for lower esophageal impedance baseline after water and acid perfusion, with borderline significance.

Table 2. Esophageal impedance baseline before and after fMRI with water and acid perfusion in obese with and without heartburn.

	Esophageal impedance baseline (mean \pm SD)		P (paired t test)
	Before perfusion	After perfusion	
With heartburn, n = 13	1265 \pm 603	923 \pm 365	0.011
Without heartburn, n = 9	1886 \pm 570	1573 \pm 487	0.064
P (unpaired t test)	0.024	0.002	

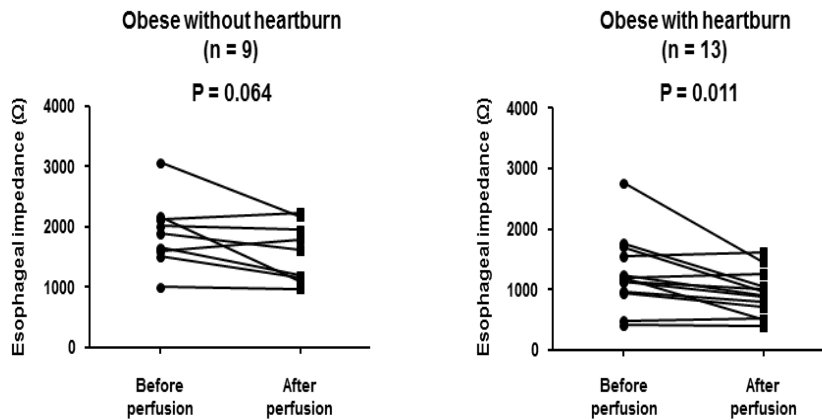


Figure 1. Esophageal impedance baseline before and after fMRI with water and acid perfusion in obese with and without heartburn.

Brain responses to esophageal acid stimulation

Task activation

There were no significant brain activation differences between groups during acid stimuli, compared to distilled water.

Task-residual Functional Connectivity

After ICA, we were able to select 6 non-noise related functional networks (FN) (Figure 2). In our age adjusted model, there was a significant cluster within the salience network (SN), in the left cerebellar VI lobule (peak FWE-corrected $p < 0.001$), where obese with heartburn presented higher functional connectivity than obese without heartburn. There were no significant differences in any other FN (Figure 3).

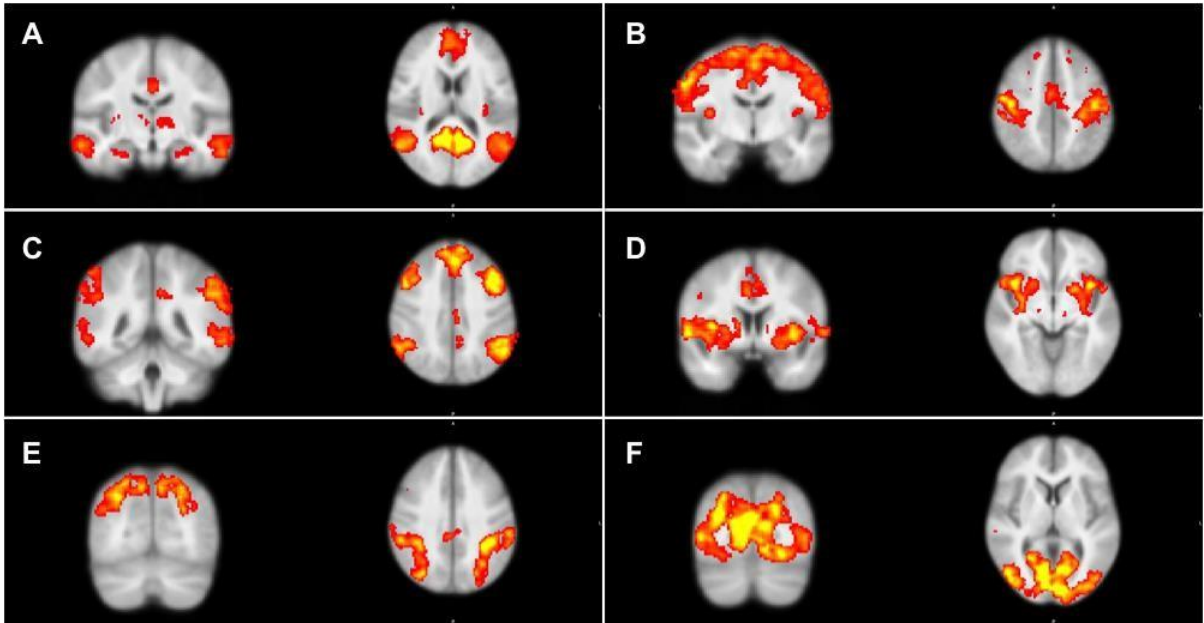


Figure 2. Selected functional networks from independent component analysis: (A) Default-mode network (DMN); (B) Somatosensory network (SMN); (C) Central executive network (ECN); (D) Salience network (SN); (E) Task-positive network (TPN); and (F) Visual network (VN).

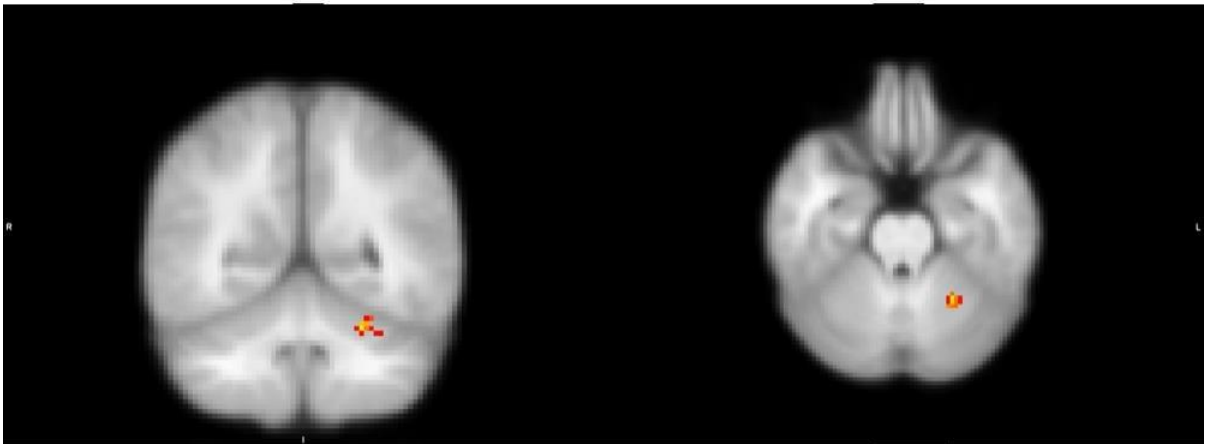


Figure 3. Significant cluster from age adjusted model (obese with heartburn > obese without heartburn). Red-yellow scale shows p-value from 0.001 - 0, respectively.

In our model with simple comparisons between participants, obese with heartburn presented with higher functional connectivity in several brain regions, within the visual network (VN), the default mode network (DMN), the salience network (SN), the task-positive network (TPN) and somatosensory network (SMN) (Figure 4). Significant clusters and respective brain regions can be found on Table 3. There was no significant cluster within the central executive network. Obese without heartburn did not present with significant higher functional connectivity in any FN.

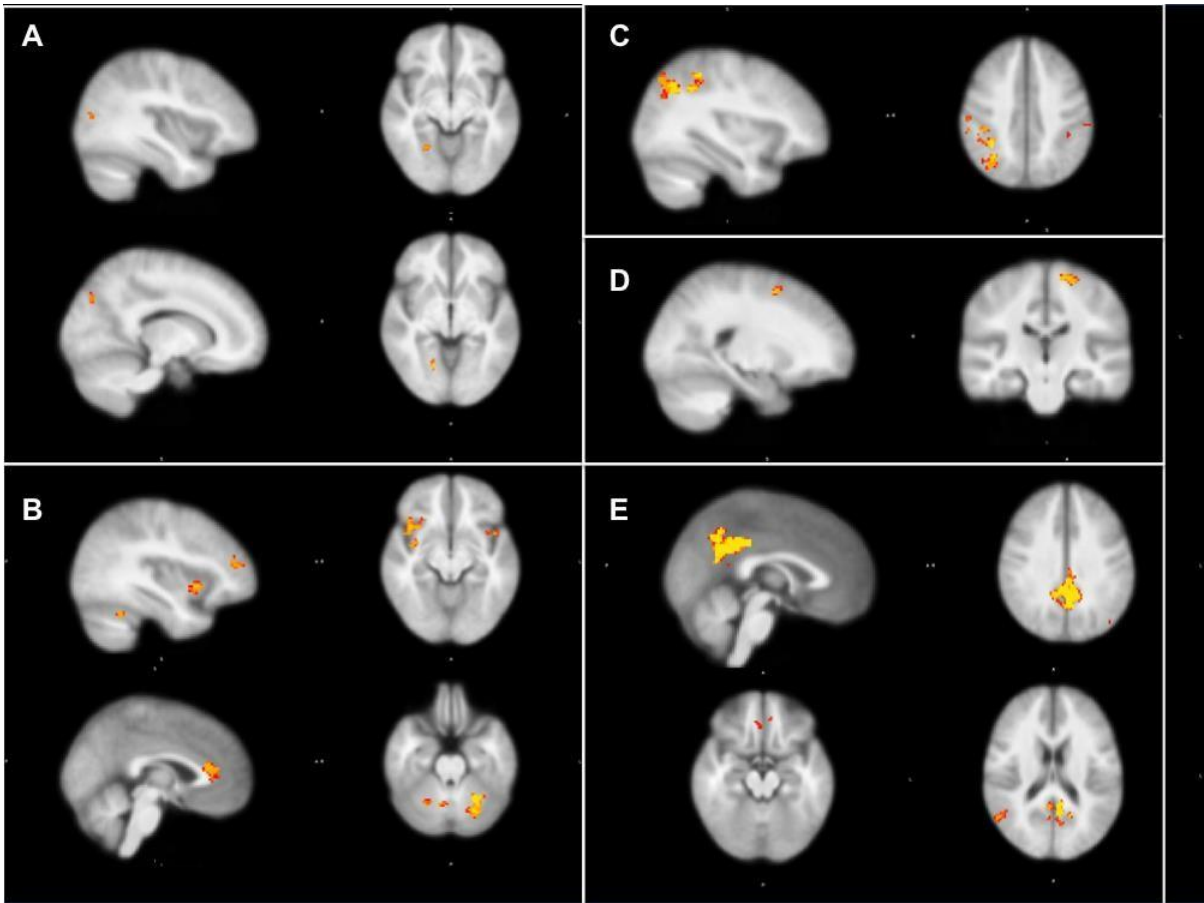


Figure 4. Significant clusters from simple comparison model (obese with heartburn > obese without heartburn): (A) Visual network (VN); (B) Saliency network (SN); (C) Task-positive network (TPN); (D) Somatosensory network (SMN); (E) Default-mode network (DMN). Red-yellow scale shows p-value from 0.001 - 0, respectively.

Table 3. Task-residual functional connectivity, significant clusters for differences in functional connectivity (with heartburn > without heartburn).

Functional network*	Brain Region	Voxel Size	Center of Gravity (X)	Center of Gravity (Y)	Center of Gravity (Z)	p**
SMN	Precentral gyrus (L)	443	53.3	58.5	66.4	<0.001
SMN	Postcentral gyrus (L)	94	56.8	45.9	68.1	<0.001
SMN	Superior frontal gyrus (R)	35	34.4	65.9	63.9	<0.001
VN	Cuneal cortex (R)	16	40.3	22.9	49.5	<0.001
VN	Lateral occipital cortex (R)	16	25.1	23.7	43.1	<0.001
VN	Precuneus cortex (L)	16	37.6	24.6	55.1	<0.001
VN	Lingual gyrus (R)	60	34	33.1	31.8	<0.001
SN	Cerebellar lobule VI (L)	320	57	32.2	24.2	<0.001
SN	Cerebellar lobule VI and Vermis (R)	89	37.9	31.6	25.2	<0.001
SN	Insular cortex and Inferior frontal gyrus (R)	1803	27.7	65	37.8	<0.001
SN	Insular cortex (L)	168	63.6	68.4	34.6	<0.001
SN	Frontal pole (L)	178	60.6	85.5	43.6	<0.001
SN	Anterior cingulate gyrus	302	43.8	79.9	43.2	<0.001
DMN	Posterior cingulate gyrus	1526	45.6	37.3	50.3	<0.001
DMN	Angular gyrus (R)	116	20.6	33.7	45.7	<0.001
DMN	Frontal medial cortex (L)	19	48.6	83.8	29.5	<0.001
DMN	Frontal medial cortex (R)	19	43.1	80.6	27.3	<0.001
TPN	Superior parietal lobule and Angular gyrus (R)	737	22.3	43.6	58.6	<0.001
TPN	Lateral superior occipital cortex (R)	275	27.5	30.1	56.6	<0.001
TPN	Supramarginal gyrus (L)	14	74	48.8	55.4	<0.001

*SMN: somatosensory network, VN: visual network, SN: salience network, DMN: default-mode network, TPN: task-positive network; **Peak FWE-corrected p-value.

Abdominal fat quantification

Fat corresponded to approximately 70% of the abdominal area in both obese with and without heartburn (Table 4). There was no significant difference in fat distribution between groups, either for visceral or subcutaneous compartments. The visceral/subcutaneous index was numerically lower in obese with heartburn than in obese without heartburn, but with a p-value far from significance.

Table 4. Tomographic quantification of abdominal fat (% of the abdominal area) in obese with and without GERD.

	With heartburn	Without heartburn	P
	n = 13	n = 9	
	Mean \pm standard deviation		
Total fat area in %	72.8 \pm 4.4	70.3 \pm 6	0.280
Visceral fat area (VFA)	30.5 \pm 7.9	33 \pm 7.8	0.484
Subcutaneous fat area (SFA)	42.2 \pm 9	37.4 \pm 9	0.226
VFA/SFA	0.79 \pm 0.36	0.96 \pm 0.37	0.307

DISCUSSION

The pathogenesis of GERD is based on reflux exposure, epithelial resistance and visceral sensitivity (5). Many efforts have been made to clarify the functioning of the brain-esophagus axis, which transmit and interpret harmful stimuli from the esophagus in many clinical conditions, such as in GERD (12). In the present study, we aimed to assess the esophagus- brain axis in obese subjects with and without the main symptom of GERD (heartburn), observing the effect of acid perfusion on esophageal impedance baseline and corresponding brain responses. We also addressed the distribution of the abdominal fat in this scenario.

In obese participants, we found that: 1. Esophageal impedance baseline discriminated GERD either before or after the acid challenge; 2. The brain responses to esophageal acid stimulation were marked by increased connectivity in several brain areas in the presence of heartburn; 3. The amount of visceral abdominal fat was not related with the presence of heartburn.

It is important to highlight the patterns of the obese participants. They averaged 33 kg/m² of BMI (obesity class I), aged 40 years old and were represented by the same proportion of men and women in both groups, with and without heartburn. All obese with typical GERD symptoms reported heartburn and mostly had the NERD phenotype, while a minority (18%) showed the erosive phenotype of GERD (LA B), with no case of severe reflux esophagitis (LA C and D) or Barrett's metaplasia. Emphasizing that LA A is no longer a confirmatory finding of GERD as suggested in the Lyon census (27). The imbalance between obese with heartburn (n = 17) and obese without heartburn (n = 9) is explained by the difficulty in convincing asymptomatic obese subjects to perform invasive procedures necessary for the study.

Esophageal impedance baseline was lower in obese with heartburn compared to obese without heartburn, either before or after esophageal acid stimulation. In addition, only obese with heartburn showed a significant decrease in impedance baseline following the acid challenge. Low esophageal impedance baseline values in the distal esophagus are known to reflect loss of mucosal integrity (34). The impedance baseline patterns found here, which were lower in obese subjects with heartburn,

indicate that the participants were adequately selected with regard to the presence / absence of GERD. The disruption of the esophageal epithelia has been considered a key factor in the pathogenesis of GERD, particularly in patients with the NERD phenotype (9), here found in most participants. Now we know that in the scenario of obesity, the pathophysiological pillar “epithelial resistance” also plays a role, at least in NERD phenotype.

In the task activation analysis of fMRI data, no differences in brain activation were found between acid and water stimuli. In the model adjusting for age, obese with heartburn showed higher brain connectivity than obese without heartburn in the salience network, specifically in the left cerebellar VI lobule. It is known that the cerebellum executes sensitive functions, showing connections with the limbic circuit, involving the cingulate region as well as the amygdala (43-45). Indeed, a recent study demonstrated that the cerebellum contributes to altered pain-related fear learning in patients with irritable bowel syndrome (43). In healthy subjects, differences between men and women have been identified regarding cerebellar involvement in visceral pain (46). However, little is known about the participation of the cerebellum in esophageal pain.

In obese participants studied with fMRI, the brain responses to esophageal acid stimulation were marked by increased connectivity in several brain networks in the presence of heartburn, including visual, default mode, salience, task-positive and somatosensory network. Most of these brain regions have been implicated in studies involving healthy volunteers and patients with GERD (13, 14, 47), although not controlled for obesity. Further studies with multimodal esophageal stimulation (48, 49) and magnetic resonance spectroscopy (50) could bring new knowledge to this field.

The amount of visceral abdominal fat was not related with the presence of heartburn, since obese with and without this symptom showed similar distribution of fat among the abdominal compartments. Several studies have associated the visceral fat with objective markers of GERD, including reflux esophagitis and Barrett’s metaplasia (20-24). However, the role of visceral fat on GERD in the BMI range here studied (30 to 41 kg/m²) is unknown. Nevertheless, we cannot rule out qualitative differences in visceral fat between obese with and without heartburn, following the theory defended by experts (25).

We recognize limitations. The task analysis was not properly designed in order to generate fMRI output, since each esophageal stimulus was presented only once to participants, in a single fMRI session, as well as for a long time (300s). Regarding trFC analysis, we did not account for age and gender in our model, which may influence the results, since our study population is heterogeneous and those are important confounders in neuroimaging studies. However, we believe that the studied subjects represent a population that is common and challenging in the clinical practice, due to the complex interaction between obesity and GERD.

In conclusion, in subjects with obesity, the brain-esophagus axis is disrupted both centrally and peripherally in the presence of heartburn. Obese with heartburn showed higher functional brain connectivity in several functional networks, including visual, default-mode, salience, task-positive, and somatosensory. They also showed decreased mucosa integrity as indicated by the lower esophageal impedance baseline. However, the amount of visceral fat was not involved in the relationship between obesity and GERD. Further studies are needed to clarify the role of high brain connectivity in obese with heartburn.

REFERENCES

1. Hampel H, Abraham NS, El-Serag HB: Meta-analysis: obesity and the risk for gastroesophageal reflux disease and its complications. *Ann Intern Med* 2005, 143(3):199-211.
2. Jacobson BC, Somers SC, Fuchs CS, Kelly CP, Camargo CA, Jr.: Body-mass index and symptoms of gastroesophageal reflux in women. *N Engl J Med* 2006, 354(22):2340-2348.
3. Eusebi LH, Ratnakumaran R, Yuan Y, Solaymani-Dodaran M, Bazzoli F, Ford AC: Global prevalence of, and risk factors for, gastro-oesophageal reflux symptoms: a meta-analysis. *Gut* 2018, 67(3):430-440.
4. El-Serag HB, Graham DY, Satia JA, Rabeneck L: Obesity is an independent risk factor for GERD symptoms and erosive esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2005, 100(6):1243-1250.
5. Tack J, Pandolfino JE: Pathophysiology of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology* 2018, 154(2):277-288.
6. Fornari F, Madalosso CA, Farre R, Gurski RR, Thiesen V, Callegari-Jacques SM: The role of gastro-oesophageal pressure gradient and sliding hiatal hernia on pathological gastro-oesophageal reflux in severely obese patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010, 22(4):404-411.
7. Pandolfino JE, El-Serag HB, Zhang Q, Shah N, Ghosh SK, Kahrilas PJ: Obesity: a challenge to esophagogastric junction integrity. *Gastroenterology* 2006, 130(3):639-649.
8. Wu JC, Mui LM, Cheung CM, Chan Y, Sung JJ: Obesity is associated with increased transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 2007, 132(3):883-

889.

9. Woodland P, Sifrim D: Oesophageal mucosal barrier: a key factor in the pathophysiology of non-erosive reflux disease (NERD) and a potential target for treatment. *Gut* 2014, 63(5):705-706.
10. Farre R: Pathophysiology of gastro-esophageal reflux disease: a role for mucosa integrity? *Neurogastroenterol Motil* 2013, 25(10):783-799.
11. Woodland P, Al-Zinaty M, Yazaki E, Sifrim D: In vivo evaluation of acid-induced changes in oesophageal mucosa integrity and sensitivity in non-erosive reflux disease. *Gut* 2013, 62(9):1256-1261.
12. Mayer EA, Labus J, Aziz Q, Tracey I, Kilpatrick L, Elsenbruch S, Schweinhardt P, Van Oudenhove L, Borsook D: Role of brain imaging in disorders of brain-gut interaction: a Rome Working Team Report. *Gut* 2019, 68(9):1701-1715.
13. Kern M, Hofmann C, Hyde J, Shaker R: Characterization of the cerebral cortical representation of heartburn in GERD patients. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004, 286(1):G174-181.
14. Lawal A, Kern M, Sanjeevi A, Antonik S, Mepani R, Rittmann T, Hussaini S, Hofmann C, Tatro L, Jesmanowicz A et al: Neurocognitive processing of esophageal central sensitization in the insula and cingulate gyrus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008, 294(3):G787-794.
15. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE et al: Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 2004, 23 Suppl 1:S208-219.
16. Chang P, FriedenberG F: Obesity and GERD. *Gastroenterol Clin North Am* 2014, 43(1):161-173.

17. Valezi AC, Herbella FAM, Schlottmann F, Patti MG: Gastroesophageal Reflux Disease in Obese Patients. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2018, 28(8):949-952.
18. Smith U: Abdominal obesity: a marker of ectopic fat accumulation. *J Clin Invest* 2015, 125(5):1790-1792.
19. Graffy PM, Pickhardt PJ: Quantification of hepatic and visceral fat by CT and MR imaging: relevance to the obesity epidemic, metabolic syndrome and NAFLD. *Br J Radiol* 2016, 89(1062):20151024.
20. Lee HL, Eun CS, Lee OY, Jeon YC, Han DS, Yoon BC, Choi HS, Hahm JS, Ahn YH, Song SY: Association between erosive esophagitis and visceral fat accumulation quantified by abdominal CT scan. *J Clin Gastroenterol* 2009, 43(3):240-243.
21. Matsuzaki J, Suzuki H, Kobayakawa M, Inadomi JM, Takayama M, Makino K, Iwao Y, Sugino Y, Kanai T: Association of Visceral Fat Area, Smoking, and Alcohol Consumption with Reflux Esophagitis and Barrett's Esophagus in Japan. *PLoS One* 2015, 10(7):e0133865.
22. Nam SY, Choi IJ, Ryu KH, Park BJ, Kim HB, Nam BH: Abdominal visceral adipose tissue volume is associated with increased risk of erosive esophagitis in men and women. *Gastroenterology* 2010, 139(6):1902-1911 e1902.
23. Ze EY, Kim BJ, Kang H, Kim JG: Abdominal Visceral to Subcutaneous Adipose Tissue Ratio Is Associated with Increased Risk of Erosive Esophagitis. *Dig Dis Sci* 2017, 62(5):1265-1271.
24. El-Serag HB, Hashmi A, Garcia J, Richardson P, Alsarraj A, Fitzgerald S, Vela M, Shaib Y, Abraham NS, Velez M et al: Visceral abdominal obesity measured by CT scan is associated with an increased risk of Barrett's oesophagus: a case-control study. *Gut* 2014, 63(2):220-229.
25. Tilg H, Moschen AR: Visceral adipose tissue attacks beyond the liver: esophagogastric

- junction as a new target. *Gastroenterology* 2010, 139(6):1823-1826.
26. Springer F, Machann J, Schwenzer NF, Ballweg V, Wurslin C, Schneider JH, Fritsche A, Claussen CD, Schick F: Quantitative assessment of intrahepatic lipids using fat-selective imaging with spectral-spatial excitation and in-/opposed-phase gradient echo imaging techniques within a study population of extremely obese patients: feasibility on a short, wide-bore MR scanner. *Invest Radiol* 2010, 45(8):484-490.
 27. Gyawali CP, Kahrilas PJ, Savarino E, Zerbib F, Mion F, Smout A, Vaezi M, Sifrim D, Fox MR, Vela MF et al: Modern diagnosis of GERD: the Lyon Consensus. *Gut* 2018, 67(7):1351-1362.
 28. Mayer EA, Aziz Q, Coen S, Kern M, Labus JS, Lane R, Kuo B, Naliboff B, Tracey I: Brain imaging approaches to the study of functional GI disorders: a Rome working team report. *Neurogastroenterol Motil* 2009, 21(6):579-596.
 29. Lundell LR, Dent J, Bennett JR, Blum AL, Armstrong D, Galimiche JP, Johnson F, Hongo M, Richter JE, Spechler SJ et al: Endoscopic assessment of oesophagitis: clinical and functional correlates and further validation of the Los Angeles classification. *Gut* 1999, 45(2):172-180.
 30. Fornari F, Gruber AC, Lopes Ade B, Cecchetti D, de Barros SG: [Symptom's questionnaire for gastroesophageal reflux disease]. *Arq Gastroenterol* 2004, 41(4):263-267.
 31. Beck AT, Epstein N, Brown G, Steer RA: An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. *J Consult Clin Psychol* 1988, 56(6):893-897.
 32. Hamilton M: The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol* 1959, 32(1):50-55.
 33. Liell TP, Tomiozzo JC, Jr., Denti F, de Lima LA, Fornari F: Determination of pH turning point with pH mapping of the gastroesophageal junction: an alternative

- technique to orientate esophageal pH monitoring. *Dis Esophagus* 2011, 24(5):305-311.
34. Farre R, Blondeau K, Clement D, Vicario M, Cardozo L, Vieth M, Mertens V, Pauwels A, Silny J, Jimenez M et al: Evaluation of oesophageal mucosa integrity by the intraluminal impedance technique. *Gut* 2011, 60(7):885-892.
 35. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TE, Woolrich MW, Smith SM: *Fsl. Neuroimage* 2012, 62(2):782-790.
 36. Smith SM: Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002, 17(3):143-155.
 37. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, Smith SM: Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of FMRI data. *Neuroimage* 2001, 14(6):1370-1386.
 38. Woolrich MW, Behrens TE, Smith SM: Constrained linear basis sets for HRF modelling using Variational Bayes. *Neuroimage* 2004, 21(4):1748-1761.
 39. Altmann A, Ng B, Landau SM, Jagust WJ, Greicius MD, Alzheimer's Disease Neuroimaging I: Regional brain hypometabolism is unrelated to regional amyloid plaque burden. *Brain* 2015, 138(Pt 12):3734-3746.
 40. Woolrich MW, Behrens TE, Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM: Multilevel linear modelling for FMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004, 21(4):1732-1747.
 41. Eloi JC, Epifanio M, de Goncalves MM, Pelliccioli A, Vieira PF, Dias HB, Bruscatto N, Soder RB, Santana JC, Mouzaki M et al: Quantification of Abdominal Fat in Obese and Healthy Adolescents Using 3 Tesla Magnetic Resonance Imaging and Free Software for Image Analysis. *PLoS One* 2017, 12(1):e0167625.
 42. Tong Y, Udupa JK, Torigian DA: Optimization of abdominal fat quantification on CT imaging through use of standardized anatomic space: a novel approach. *Med Phys* 2014, 41(6):063501.

43. Claassen J, Labrenz F, Ernst TM, Icenhour A, Langhorst J, Forsting M, Timmann D, Elsenbruch S: Altered Cerebellar Activity in Visceral Pain-Related Fear Conditioning in Irritable Bowel Syndrome. *Cerebellum* 2017, 16(2):508-517.
44. Guell X, Gabrieli JDE, Schmahmann JD: Triple representation of language, working memory, social and emotion processing in the cerebellum: convergent evidence from task and seed-based resting-state fMRI analyses in a single large cohort. *Neuroimage* 2018, 172:437-449.
45. Stoodley CJ, Valera EM, Schmahmann JD: Functional topography of the cerebellum for motor and cognitive tasks: an fMRI study. *Neuroimage* 2012, 59(2):1560-1570.
46. Kano M, Farmer AD, Aziz Q, Giampietro VP, Brammer MJ, Williams SC, Fukudo S, Coen SJ: Sex differences in brain response to anticipated and experienced visceral pain in healthy subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013, 304(8):G687- 699.
47. Kern M, Chai K, Lawal A, Shaker R: Effect of esophageal acid exposure on the cortical swallowing network in healthy human subjects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009, 297(1):G152-158.
48. Broers C, Boecxstaens V, Deloose E, Tack J, Pauwels A: The optimal order of stimulation modalities and reproducibility of the multimodal esophageal stimulation paradigm. *Neurogastroenterol Motil* 2019, 31(1):e13475.
49. Drewes AM, Schipper KP, Dimcevski G, Petersen P, Andersen OK, Gregersen H, Arendt-Nielsen L: Multimodal assessment of pain in the esophagus: a new experimental model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002, 283(1):G95-103.
50. Ende G: Proton Magnetic Resonance Spectroscopy: Relevance of Glutamate and GABA to Neuropsychology. *Neuropsychol Rev* 2015, 25(3):315-325.

CAPÍTULO 2 - ARTIGO 2

(para submissão à revista SOARD, FI: 3.603 – A2)

The brain-esophagus axis in obese and nonobese assessed by esophageal acid perfusion and functional brain imaging: are there differences in the presence of GERD symptoms?

Marcelo Ribeiro, MD^{1,2}; José Carlos Tomiozzo Jr., MMed¹; Cassiano Mateus Forcelini, PhD³; Carlos Augusto Scussel Madalosso⁴; Ricardo Bernardi Soder, PhD⁵; Fernando Fornari, PhD^{1,3,6}

¹Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS; ²Clínica KOZMA, Passo Fundo-RS; ³Faculdade de Medicina, Universidade de Passo Fundo; ⁴Clínica Gastrobese, Passo Fundo-RS; ⁵Instituto do Cérebro, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS; ⁶Faculdade de Odontologia, Programa de Pós- Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo- RS, Brazil.

Corresponding author: Fernando Fornari, Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos 2400, 2º andar, CEP 90035003, Porto Alegre - RS, Brazil. Phone: +55.51.33085616. Email: fernandofornari@gmail.com

Short title: Brain-esophagus axis in obese

Acknowledgements: The authors wish to thank Clinica Kozma's staff for helping in the performance of the fMRI exams.

Funding: This study was partially supported by Kozma and Endopasso Clinics. Disclosures: The authors report no conflict of interest.

ABSTRACT

Aim: To evaluate heartburn perception and brain connectivity responses during esophageal acid stimulation in obese and nonobese, controlling for symptoms of gastroesophageal reflux disease (GERD).

Methods: In this cross-sectional study, 25 obese (body mass index (BMI) ≥ 30 Kg/m²) and 46 nonobese underwent functional magnetic resonance imaging (fMRI) of the brain with esophageal water and acid perfusion. fMRI paradigm and connectivity were assessed.

Results: Two-thirds of the participants had GERD symptoms. Heartburn perception during fMRI did not differ between obese and nonobese. The presence of GERD was associated with lower activation in frontal brain regions during acid perfusion compared to water perfusion. Compared to nonobese, obese participants presented significant reduced connectivity within the anterior salience network. Corrected clusters included left caudate, left putamen and left anterior cingulate gyrus regions.

Conclusions: The brain-esophagus axis showed slight changes in obese and nonobese. In the presence of GERD symptoms, esophageal sensitivity evoked by acid perfusion was equal in these populations in terms of heartburn perception, but was accompanied of subtle changes in brain responses.

Keywords: functional MRI, esophageal acid perfusion, GERD, obesity.

INTRODUCTION

Obesity has become one of the greatest public health challenges, with a perspective that > 50% of the world adult population will be overweight and obese by 2030 [1]. In obese individuals, the prevalence of GERD is considerably higher than in the nonobese population [2, 3]. This association results from a series of conditions related to obesity including diet, increased gastric pressure, release of proinflammatory agents by visceral fat [4, 5], and proximal dislocation of the gastric pocket [6].

Other mechanisms such as epithelial resistance and visceral sensitivity are less well understood in obese [7]. Few studies have described both hyper and esophageal hyposensitivity in the presence of obesity [8, 9]. Recently, new technologies enabled the evaluation of brain responses related to visceral stimulation [10]. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) has been used to assess the brain-esophagus axis and the relationship with perception of heartburn in volunteers and patients with GERD [11, 12]. This tool allows both task analysis as a response to esophageal acid stimulation and assessment of task-residual connectivity [13]. However, studies evaluating the brain-esophagus axis are unknown in obese [14, 15]. The aim of this study was to evaluate heartburn perception and brain connectivity responses during esophageal acid stimulation in obese and nonobese, controlling for GERD symptoms.

METHODS

Participants

In this cross-sectional study with retrospective analysis of a prospectively built database, obese (BMI ≥ 30 kg/m²) and nonobese subjects were recruited and studied in three different periods: i. obese (n = 2) and nonobese (n = 18) patients with nonerosive GERD in 2010 [16]; ii. Nonobese (n = 17) healthy volunteers and obese (n = 2) and nonobese (n = 11) patients with erosive GERD in 2012; and iii. Obese (n = 21) subjects with GERD (n = 13) and without GERD (n = 8) studied in 2015. Although in different periods, all participants were studied following a unique protocol for data acquisition.

The inclusion criteria for all participants were: 1 – older than 18 years old; 2 – right-handed; 3 – consent to participate. Exclusion criteria were: 1. uncompensated clinical morbidities; 2 – gastroesophageal surgery; 3 – claustrophobia; 4 – regular use of acid suppressive medications or drugs acting on the central nervous system; 5 – pregnancy; 6 – use of metal orthodontic appliances. GERD was confirmed in the presence of troublesome typical symptoms (heartburn and/or acid regurgitation) evaluated with a validated GERD symptoms questionnaire (GERD-SQ) [17]. All participants except the nonobese healthy volunteers performed upper digestive endoscopy. Reflux esophagitis was identified according to Los Angeles classification (grades A, B, C and D). Anxiety and depression scores were obtained with Hamilton Anxiety Scale [18] and Beck Depression Inventory [19], respectively. All participants gave their informed consent and the study was approved (numbers 150/2009 and 383/2011) by the Ethics Committee of the University of Passo Fundo, following the rules of the Helsinki Declaration.

Study protocol

Esophageal acid stimulation

A mono-lumen catheter was inserted trans-nasally and positioned at 5cm proximally to the lower esophageal sphincter according to previously mapped pH turning point, as published elsewhere [20]. Subjects were instructed to lie still during the exam, and signalize with the left hand with one finger when heartburn was perceived. The experimental protocol included an anatomical scanning followed by two periods of 5 minutes each, with esophageal perfusion at 1mL/min. The first perfusion was performed with distilled water (pH 6.5) and the second with a solution based on hydrochloric acid (pH 1.5). In both periods, we acquired functional images of the brain.

fMRI data acquisition

Magnetic resonance (MR) images were acquired at Clínica Kozma (Passo Fundo, RS, Brazil) using a 1.5 Tesla Magnetom Avanto (Siemens AG, Munich, Germany), equipped with a standard eight-channel head coil. High-resolution tridimensional anatomic images were obtained from 176 sagittal spoiled gradient recalled sequence slices with a voxel size of 1.0 x 1.0 x 1.0 mm, for further co-registration with functional images. For functional acquisition, echo planar images were obtained in a mosaic composed by 36 axial slices of 64 x 64 pixels over a 220 mm field of view, with a voxel size of 3.0 x 3.0 x 3.75mm, repetition time (TR) of 4270ms, echo time (TE) of 50ms.

MRI preprocessing and first-level analysis

MRI functional images were preprocessed using FMRIB Software Library (FSL) [21]. Brain extraction was performed using Brain Extraction Tool (BET) [22]. After that, functional data preprocessing was carried out using the FEAT program standard pipeline for first-level analysis [23].

Data underwent motion correction, slice timing correction and Gaussian kernel smoothing full width at half maximum (FWHM) of 4.0 mm. Functional data were co-registered with subject respective T1 anatomical image. Anatomical data was registered in standard MNI152 space, using FLIRT with 12 degrees of freedom and the resulting transformation matrix was applied to warp co-registered functional data into standardized space. We then, modeled task time series within FEAT [24], modeling HRF response assuming a sinusoidal function for water and acid perfusion effects on signal variance.

Task-residual functional connectivity (trFC analysis)

After first-level analysis, the resulting residuals (effects not explained by task), underwent independent component analysis (ICA) carried out with MELODIC [13]. ICA analysis decomposed each participant functional data into spatial and temporal components, and concatenated all subjects components using Multi-session temporal concatenation to generate group-spatial-maps. Non-noise related components of interest were then selected according to a functional network atlas [25]. From the group selected components we created masks using a threshold of $z > 2.3$ that will further be utilized in group comparisons.

Statistical analysis

Group comparisons between subjects for task data, was carried out using FLAME1 [26] part of FEAT for higher-level analysis, which uses mixed effects modelling to estimate signal parameters. We account for normalized BMI as a continuous variable and GERD as a dummy variable in our task model, cluster correction for multiple comparisons were then performed, using a threshold of $z > 2.3$.

Task-residual functional connectivity group comparisons were carried out in FSL using dual regression and the program Randomise. First, group-spatial-maps were regressed for each specific subject time series, after it regresses those time series into the same 4D data to generate subject-

specific spatial maps. Eventually, Randomise was used to compare groups. We account for normalized BMI as a continuous variable and GERD status as a dummy variable in the first model, and in the second model, we account for obesity (BMI > 30) as a dummy variable (two sample independent t-test). Randomise was carried out using 5000 permutations, and cluster correction for multiple comparisons, a p-value < 0.05 for corrected clusters was considered significant. From significant clusters, we created region of interest (ROI) masks and warp them to subject-specific native space, to extract connectivity z-score values from those ROIs.

For comparison of demographic and clinical characteristics between the groups, the Student's t and χ -square tests were employed for quantitative and qualitative variables, respectively. In case of asymmetric quantitative data, the Mann-Whitney U test was used. The p value defined as significant was 0.05.

RESULTS

Participants

A total of 72 subjects were enrolled in the study. One participant was excluded due to artifact on fMRI data. Among 71 participants, there were 25 obese and 46 nonobese (Table 1). Women and men were equally distributed in both groups, whereas obese were slightly older than nonobese. Due to entry criteria, BMI was approximately 9 kg/m² greater in the obese. The morbidity variables including GERD, depression and anxiety were all similar between obese and nonobese. GERD defined by troublesome symptoms and/or reflux esophagitis affected approximately 65% of the participants in both groups.

Table 1. Characteristics of the participants (n = 71)

Characteristics	Obese n = 25	Nonobese n = 46	P
Women, n (%)	11 (44)	26 (56)	0.333
Age in years, mean ± sd	39.4 ± 9.9	33.6 ± 11	0.032
BMI in kg/m ² , mean ± sd	33.5 ± 3.8	24.3 ± 3.2	<0.001
GERD*, n (%)	17 (68)	29 (63)	0.797
GERD-SQ, median (IQR**)	6 (5-16)	8 (0-13.3)	0.425
GERD-SQ > 10 points, n (%)	10 (40)	19 (41)	0.999
RE†, n/performed endoscopy (%)	9/25 (36)	11/29 (38)	0.999
Depression			
Median score (interquartile range)	6 (3-10.5)	4 (1-10)	0.171
Anxiety			
Median score (interquartile range)	8 (3-15)	7 (3-13.7)	0.965

*Defined by troublesome typical symptoms and/or reflux esophagitis; **Interquartile range 25%-75%; †Reflux esophagitis Los Angeles A, B, C and D;

Heartburn perception during fMRI

The perception of heartburn did not differ between obese and nonobese, being signaled by approximately 40% of the participants (Table 2). A subgroup analysis of participants with GERD (n = 46) did not show differences in heartburn perception between obese and nonobese.

Table 2. Heartburn perception (and score) during fMRI with esophageal perfusion (5 min water and 5 min acid) in obese and nonobese.

	Obese n = 25	Nonobese n = 46	P
Heartburn			
Yes/no (%)	9/16 (36)	19/27 (41)	0.800
Score, median (IQR*)	0 (0-2.5)	0 (0-3.5)	0.902
With GERD**, n = 46			
Heartburn yes/no (%)	8/9	15/14	0.999
Heartburn score	0 (0-7.5)	1 (0-5.5)	0.980

*Interquartile range 25%-75%; GERD defined by troublesome typical symptoms and/or reflux esophagitis.

Brain responses to esophageal acid stimulation

Task activation

The presence of GERD was associated with lower brain activation in frontal brain areas, during acid perfusion compared to water perfusion, after controlling for BMI (Table 3). Significant clusters included left and right frontal orbital cortex, right inferior frontal gyrus and left frontal pole. BMI was not associated with significant changes in brain activation, after adjusting for GERD status.

Table 3. Significant activation clusters, associated with GERD status (control > GERD), comparing acid perfusion with water perfusion.

Brain Region	Voxel Size	Max z-stat	Max X	Max Y	Max Z
Left Frontal Orbital Cortex	65	4.19	66	80	27
Left Frontal Pole	55	4.09	67	90	29
Right Frontal Orbital Cortex	35	4.58	28	78	27
Right Frontal Inferior Gyrus	21	3.85	25	81	32

Task-residual Functional Connectivity

In the model using BMI adjusted for GERD status, no significant changes were found in any functional network. In the model with dichotomous BMI (obese vs. nonobese), obese patients presented significant reduced connectivity within the anterior salience network (Figure 1) in the following regions: left caudate, left putamen and left anterior cingulate gyrus (IACG). Cluster information with mean normalized connectivity for each group can be found in Table 4. There were no significant differences between groups within the default mode network, sensorimotor network, executive network, primary visual network.

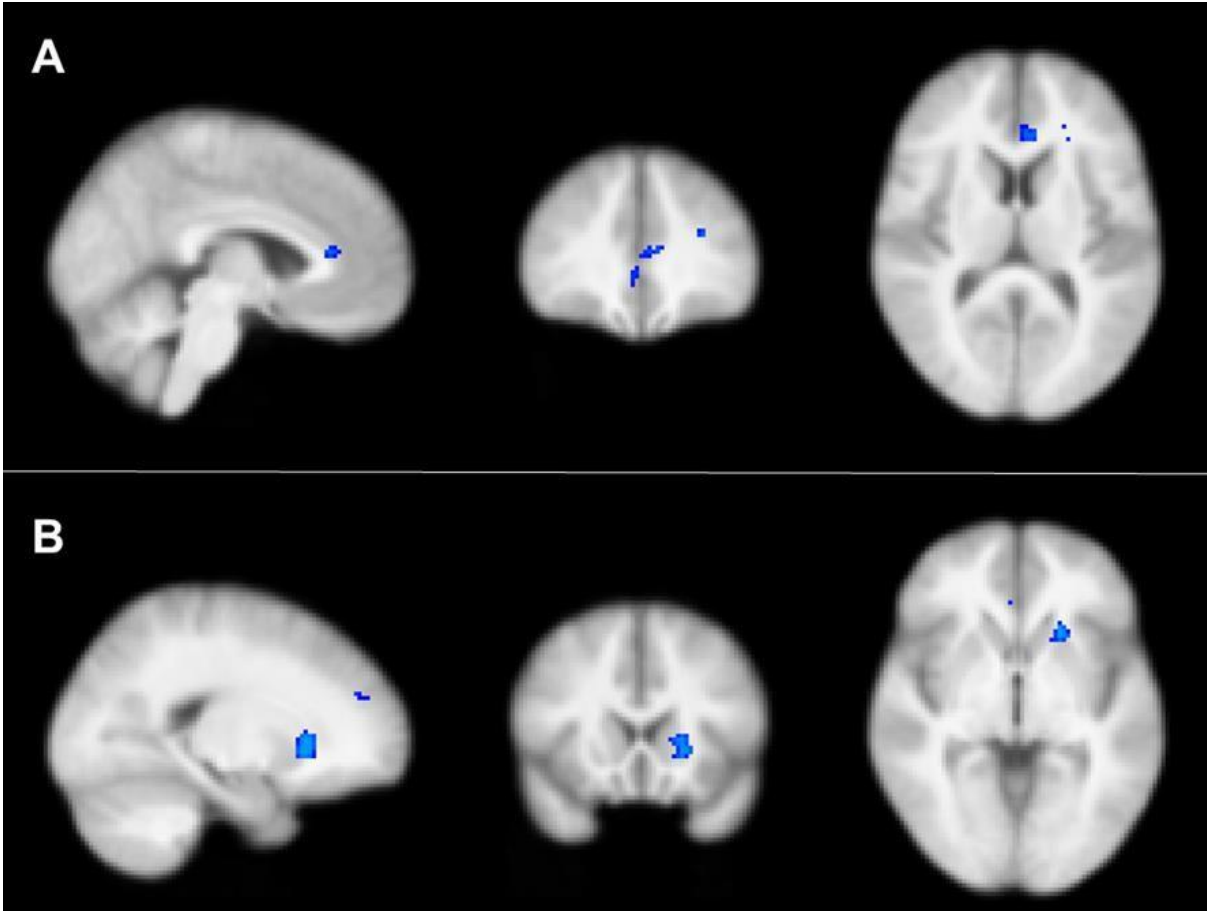


Figure 1. Differences in trFC between obese and nonobese within the anterior salience network.(A) IACG cluster. (B) Putamen and Caudate cluster. Blue codifies reduced values in obese subjects.

Table 4. Significant trFC clusters, associated with obesity status within the anterior salience network (nonobese > obese).

Brain Region	Voxel Size	Max p-value	Max X	Max Y	Max Z	Mean obese connectivity (std)	Mean nonobese connectivity (std)
Left Caudate and Left Putamen	106	0.019	55	73	35	0.89 (0.98)	2.4 (1.3)
Left Anterior Cingulate Gyrus (IACG)	37	0.038	47	79	42	1.59 (0.9)	3.24 (1.7)

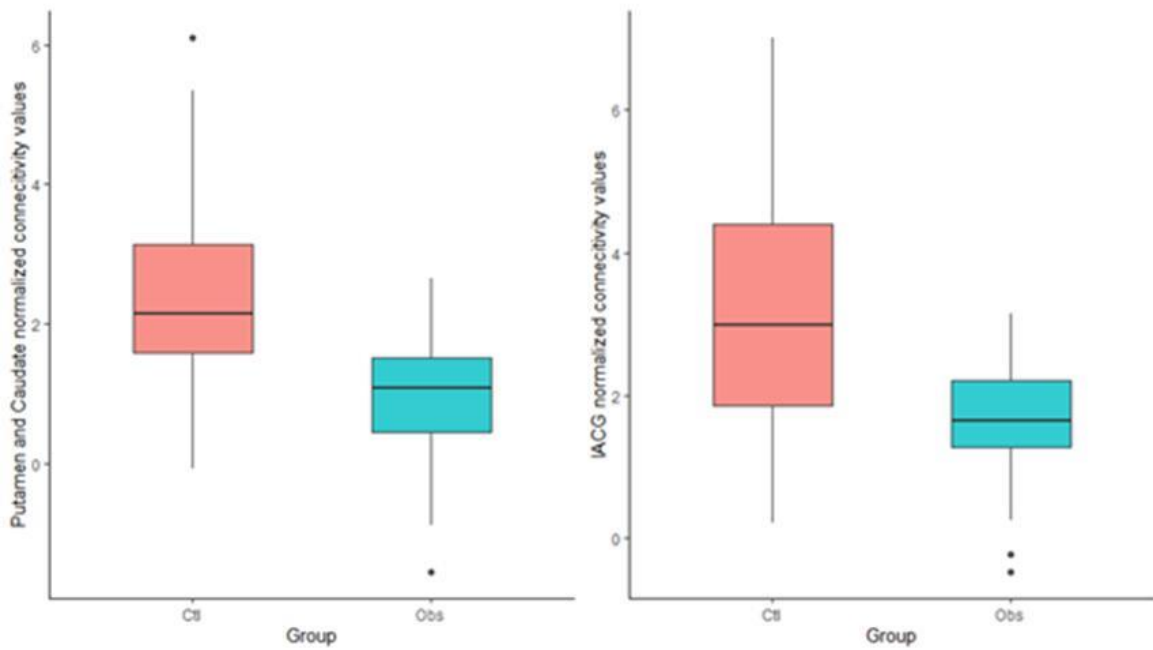


Figure 2. Mean connectivity values within the anterior salience network for each group in each cluster. Left image shows mean connectivity in the Putamen and Caudate nuclei. Right image shows mean connectivity for the left anterior cingulate gyrus. Obese patients with GERD symptoms correspond to the blue boxplot and controls to the orange.

DISCUSSION

In this study involving obese and nonobese with a mix of GERD phenotypes, we investigated whether heartburn perception and brain responses during esophageal acid stimulation are different in relation to obesity. Both task analysis as a response to esophageal acid stimulation and task-residual connectivity were obtained with fMRI. As far as we know, this is the first study addressing the brain-esophagus axis in obese and nonobese in the context of GERD. The main findings were: 1. Overall perception of heartburn during esophageal acid perfusion was similar between obese and nonobese; 2. Among obese and nonobese with GERD symptoms, the perception of heartburn also did not differ; 3. Compared to nonobese, obese participants presented significant reduced connectivity within the anterior salience network, including left caudate, left putamen and left anterior cingulate gyrus; 4. Participants with GERD symptoms presented lower brain activation related to esophageal acid perfusion in frontal brain regions; 5. Obese and nonobese were balanced in terms of depression and anxiety scores, softening the influence of these emotional conditions on results.

Visceral hypersensitivity is more commonly reported in patients with functional gastrointestinal diseases, such as functional heartburn [27]. This mechanism, represented by the brain-esophagus axis, contributes to functional esophageal pain and is due to the complex interaction between peripheral nerves, superior cortical centers, descending inhibitory pathway and psychological modulation triggered by the stimulus [28]. However, few studies have addressed the role of obesity on esophageal sensitivity in the context of GERD. Mercer et al. compared asymptomatic obese and lean volunteers and found esophageal hypersensitivity to acid perfusion in the obese participants [8]. In contrast, Ortiz et al. reported that asymptomatic GERD is more common than the symptomatic pattern in severely obese ($\text{BMI} \geq 40 \text{ kg/m}^2$) patients [9].

In the present study, the perception of heartburn during esophageal acid stimulation was similar in obese and nonobese. Acid perfusion in the distal esophagus lasted 5 minutes using a solution with very low pH (~1.5) and was able to trigger heartburn in approximately 40% of the participants. This model of esophageal stimulation followed the patterns proposed by Kern et al, pioneers in the evaluation of

the brain-esophagus axis in patients with GERD [11]. The use of multimodal esophageal stimulation paradigm [29, 30], including thermal, mechanical, electrical and chemical (acidic solution) stimulations could provide additional data regarding esophageal sensitivity.

Attempts have been made to clarify the mechanisms of exacerbation in visceral sensitivity using various neurophysiological and brain imaging techniques, including fMRI. The limbic system, which includes the insular, cingulate, amygdala, thalamus, hypothalamus and prefrontal cortex, has been reported to participate in the processing of afferent sensory inputs of the esophagus [11, 31, 32]. In particular, the insula and cingulate play a role in the integration of autonomic, affective, cognitive and motor responses to sensory signals originated from the upper and lower gastrointestinal tract [33]. The prefrontal lobe cortex is the senior center of algesia. Somatic and visceral sensory information converge on the insula, which can manage sensation and emotion. In our study, obese subjects presented significant reduced connectivity within the anterior salience network, including left caudate, left putamen and left anterior cingulate gyrus, compared to nonobese. This interesting finding may be an initial explanation for asymptomatic GERD being more common than the symptomatic pattern in severely obese [9]. In addition, participants with GERD presented lower brain activation related to acid perfusion in frontal brain regions compared to participants without GERD. However, in the model using BMI adjusted for GERD status, no significant changes were found in any functional network.

Most of the neuroimaging studies of the brain-esophagus axis are based on intermittent or continuous esophageal stimulation. Even though these are not stimulus-specific, anticipation of stimuli can trigger similar activity and repeated activations can result in adaptation [34]. Through the application of a single acidic perfusion, we could minimize these effects. Moreover, the resting state networks identified through ICA point to intriguing group differences in the central response to esophageal stimulation in obese and nonobese. Further studies in obese and nonobese subjects are still needed to understand the complex interactions of the brain-esophagus axis [10], including those here identified.

We recognize limitations. The task analysis was not properly designed in order to generate fMRI output, since each esophageal stimulus was presented only once to participants, in a single fMRI session, as well as for a long time (300s). Regarding trFC analysis, we did not account for age and gender in our model, which may influence the results, since our study population is heterogeneous and

those are important confounders in neuroimaging studies. Nevertheless, the inclusion of different GERD phenotypes in young adult obese and nonobese translates a common type of patient in the clinical practice, increasing the generalization of our results.

In summary, the brain-esophagus axis showed slight changes in obese and nonobese. In the presence of GERD symptoms, esophageal sensitivity evoked by acid perfusion was equal in these populations in terms of heartburn perception, but was accompanied of subtle changes in brain responses.

REFERENCES

1. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J: Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)* 2008, 32(9):1431-1437.
2. El-Serag HB, Graham DY, Satia JA, Rabeneck L: Obesity is an independent risk factor for GERD symptoms and erosive esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2005, 100(6):1243-1250.
3. Fisher BL, Pennathur A, Mutnick JL, Little AG: Obesity correlates with gastroesophageal reflux. *Dig Dis Sci* 1999, 44(11):2290-2294.
4. Rubenstein JH, Morgenstern H, McConell D, Scheiman JM, Schoenfeld P, Appelman H, McMahon LF, Jr., Kao JY, Metko V, Zhang M et al: Associations of diabetes mellitus, insulin, leptin, and ghrelin with gastroesophageal reflux and Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2013, 145(6):1237-1244 e1231-1235.
5. Tilg H, Moschen AR: Visceral adipose tissue attacks beyond the liver: esophagogastric junction as a new target. *Gastroenterology* 2010, 139(6):1823-1826.
6. Robertson EV, Derakhshan MH, Wirz AA, Lee YY, Seenan JP, Ballantyne SA, Hanvey SL, Kelman AW, Going JJ, McColl KE: Central obesity in asymptomatic volunteers is associated with increased intrasphincteric acid reflux and lengthening of the cardiac mucosa. *Gastroenterology* 2013, 145(4):730-739.
7. Tack J, Pandolfino JE: Pathophysiology of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology* 2018, 154(2):277-288.
8. Mercer CD, Wren SF, DaCosta LR, Beck IT: Lower esophageal sphincter pressure and gastroesophageal pressure gradients in excessively obese patients. *J Med* 1987, 18(3-4):135-146.
9. Ortiz V, Ponce M, Fernandez A, Martinez B, Ponce JL, Garrigues V, Ponce J: Value of heartburn for diagnosing gastroesophageal reflux disease in severely obese patients.

- Obesity (Silver Spring) 2006, 14(4):696-700.
10. Mayer EA: The Role of Gut-Brain Interactions in Influencing Symptoms of Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterol Hepatol (N Y)* 2018, 14(1):44-46.
 11. Kern M, Hofmann C, Hyde J, Shaker R: Characterization of the cerebral cortical representation of heartburn in GERD patients. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004, 286(1):G174-181.
 12. Lawal A, Kern M, Sanjeevi A, Antonik S, Mepani R, Rittmann T, Hussaini S, Hofmann C, Tatro L, Jesmanowicz A et al: Neurocognitive processing of esophageal central sensitization in the insula and cingulate gyrus. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008, 294(3):G787-794.
 13. Smith SM, Jenkinson M, Woolrich MW, Beckmann CF, Behrens TE, Johansen-Berg H, Bannister PR, De Luca M, Drobnjak I, Flitney DE et al: Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage* 2004, 23 Suppl 1:S208-219.
 14. Hobson AR, Aziz Q: Brain imaging and functional gastrointestinal disorders: has it helped our understanding? *Gut* 2004, 53(8):1198-1206.
 15. Mayer EA, Labus J, Aziz Q, Tracey I, Kilpatrick L, Elsenbruch S, Schweinhardt P, Van Oudenhove L, Borsook D: Role of brain imaging in disorders of brain-gut interaction: a Rome Working Team Report. *Gut* 2019, 68(9):1701-1715.
 16. Forcelini CM, Tomiozzo JC, Jr., Farre R, Van Oudenhove L, Callegari-Jacques SM, Ribeiro M, Madalosso BH, Fornari F: Effect of nortriptyline on brain responses to painful esophageal acid infusion in patients with non-erosive reflux disease. *Neurogastroenterol Motil* 2014, 26(2):187-195.
 17. Fornari F, Gruber AC, Lopes Ade B, Cecchetti D, de Barros SG: [Symptom's questionnaire for gastroesophageal reflux disease]. *Arq Gastroenterol* 2004, 41(4):263-

267.

18. Hamilton M: The assessment of anxiety states by rating. *Br J Med Psychol* 1959, 32(1):50-55.
19. Beck AT, Epstein N, Brown G, Steer RA: An inventory for measuring clinical anxiety: psychometric properties. *J Consult Clin Psychol* 1988, 56(6):893-897.
20. Liell TP, Tomiozzo JC, Jr., Denti F, de Lima LA, Fornari F: Determination of pH turning point with pH mapping of the gastroesophageal junction: an alternative technique to orientate esophageal pH monitoring. *Dis Esophagus* 2011, 24(5):305-311.
21. Jenkinson M, Beckmann CF, Behrens TE, Woolrich MW, Smith SM: Fsl. *Neuroimage* 2012, 62(2):782-790.
22. Smith SM: Fast robust automated brain extraction. *Hum Brain Mapp* 2002, 17(3):143-155.
23. Woolrich MW, Ripley BD, Brady M, Smith SM: Temporal autocorrelation in univariate linear modeling of FMRI data. *Neuroimage* 2001, 14(6):1370-1386.
24. Woolrich MW, Behrens TE, Smith SM: Constrained linear basis sets for HRF modelling using Variational Bayes. *Neuroimage* 2004, 21(4):1748-1761.
25. Altmann A, Ng B, Landau SM, Jagust WJ, Greicius MD, Alzheimer's Disease Neuroimaging I: Regional brain hypometabolism is unrelated to regional amyloid plaque burden. *Brain* 2015, 138(Pt 12):3734-3746.
26. Woolrich MW, Behrens TE, Beckmann CF, Jenkinson M, Smith SM: Multilevel linear modelling for FMRI group analysis using Bayesian inference. *Neuroimage* 2004, 21(4):1732-1747.
27. Aziz Q, Fass R, Gyawali CP, Miwa H, Pandolfino JE, Zerbib F: Functional Esophageal Disorders. *Gastroenterology* 2016.
28. Fass R, Tougas G: Functional heartburn: the stimulus, the pain, and the brain. *Gut*

- 2002, 51(6):885-892.
29. Broers C, Boecxstaens V, Deloose E, Tack J, Pauwels A: The optimal order of stimulation modalities and reproducibility of the multimodal esophageal stimulation paradigm. *Neurogastroenterol Motil* 2019, 31(1):e13475.
 30. Drewes AM, Schipper KP, Dimcevski G, Petersen P, Andersen OK, Gregersen H, Arendt-Nielsen L: Multimodal assessment of pain in the esophagus: a new experimental model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002, 283(1):G95-103.
 31. Aziz Q, Andersson JL, Valind S, Sundin A, Hamdy S, Jones AK, Foster ER, Langstrom B, Thompson DG: Identification of human brain loci processing esophageal sensation using positron emission tomography. *Gastroenterology* 1997, 113(1):50-59.
 32. Hobson AR, Aziz Q: Brain processing of esophageal sensation in health and disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2004, 33(1):69-91.
 33. Derbyshire SW: A systematic review of neuroimaging data during visceral stimulation. *Am J Gastroenterol* 2003, 98(1):12-20.
 34. Frokjaer JB, Olesen SS, Graversen C, Andresen T, Lelic D, Drewes AM: Neuroimaging of the human visceral pain system-A methodological review. *Scand J Pain* 2018, 2(3):95-104.

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Em pacientes com obesidade, o eixo cérebro-esôfago parece estar comprometido tanto centralmente, pela maior conectividade cerebral, quanto periféricamente, pela redução da integridade da mucosa esofágica, na presença de sintomas de DRGE. Nesta população, a quantidade de gordura visceral no abdome não parece exercer papel na relação entre obesidade e DRGE.

O eixo cérebro-esôfago apresentou alterações discretas na comparação entre obesos e não obesos. Na presença de sintomas de DRGE, a sensibilidade esofágica provocada pela perfusão de ácido não diferiu entre obesos e não obesos em termos da percepção de pirose, mas foi acompanhada por alterações sutis nas respostas cerebrais.

Através deste estudo, então, podemos evidenciar que os pacientes com obesidade apresentam alterações nas respostas cerebrais e na integridade da mucosa esofágica na presença de DRGE.

Dentre as perspectivas futuras para novos estudos consideramos as possibilidades de uma melhor caracterização de fenótipos da DRGE (esôfago hipersensível, NERD, doença erosiva), aprimoramento do protocolo de provocação esofágica utilizado-se estimulação multimodal (térmica, mecânica, elétrica e química), e utilização de progressos na imagem por ressonância magnética funcional (IRMf) do cérebro, com avanços tecnológicos como evolução de software e otimização dos protocolos de aquisição de sequências, bem como também utilização de Espectroscopia de Prótons com Ressonância Magnética (EPRM), por exemplo, como melhoras consistentes para complementação e ampliação dos resultados e obtenção de maior conhecimento do tema.

ORÇAMENTO

<i>Materiais/ Procedimentos</i>	<i>Custo/unidade (R\$)</i>	<i>Quantidade</i>	<i>Total (R\$)</i>
Folha A4 *	25,00 / pacote	4	100,00
Escalas psicométricas *	25,00	60	1.500,00
Cateter de pHmetria ‡	800,00	3	2.400,00
RMf (cérebro e abdome) ¥	1.000,00	60	60.000,00
Computador ‡	1.500,00	1	1.500,00
TOTAL			65.500,00

* Disponível; ‡ Financiado pelo Edital Universal do CNPq; ¥ Cortesia da Clínica Kozma, Passo Fundo-RS.

ANEXOS

ANEXO 1: Questionário de sintomas na DRGE

Nome: _____ Data: _____

Para **cada pergunta** marque um **X** no número que achar mais parecido com os seus sintomas, de acordo com o que você sentiu nas **últimas 4 semanas**. O significado dos números é:

- 0** : não sinto.
- 1** : sinto mas não me incomoda.
- 2** : sinto e me incomoda, mas não todos os dias.
- 3** : sinto e me incomoda todos os dias.
- 4** : sinto e isto atrapalha o que eu faço durante o dia.
- 5** : sinto e os sintomas são muito ruins (não me deixam fazer nada).

Perguntas:

- 1) quanto o incomoda a sua azia? ()
 - 2) sente azia quando está deitado? ()
 - 3) sente azia quando está em pé? ()
 - 4) sente azia após as refeições? ()
 - 5) a azia altera seus hábitos de alimentação? ()
 - 6) a azia acorda você durante o sono? ()
 - 7) você sente dificuldade para engolir? ()
 - 8) você sente dor ao engolir? ()
 - 9) volta líquido ou alimento do estômago em direção à boca? ()
 - 10) se você precisa tomar remédios, isto atrapalha o seu dia-a-dia? ()
 - 11) Qual o grau de satisfação você diria que está com a sua situação atual?
Muito satisfeito neutro
insatisfeito muito insatisfeito
incapacitado satisfeito
-

ANEXO 2: Inventário de depressão de Beck

Nome: _____ Data: _____

“Este questionário consiste em 21 grupos de afirmações. Depois de ler cuidadosamente cada grupo, faça um círculo em torno do número (0, 1, 2 ou 3) próximo à afirmação, em cada grupo, que descreve melhor a maneira que você tem se sentido na última semana, incluindo hoje. Tome o cuidado de ler todas as afirmações, em cada grupo, antes de fazer a sua escolha”.

1. 0 – Não me sinto triste 1 – Eu me sinto triste
2 – Estou sempre triste e não consigo sair disto.
3 – Estou tão triste ou infeliz que não consigo suportar.
2. 0 – Não estou especialmente desanimado com relação ao futuro. 1 – Eu me sinto desanimado com relação ao futuro.
2 – Acho que nada tenho a esperar.
3 – Acho o futuro sem esperança e tenho a impressão de que as coisas não podem melhorar.
3. 0 – Não me sinto um fracasso.
1 – Acho que fracassei mais do que uma pessoa comum.
2 – Quando olho para trás, na minha vida, tudo o que posso ver é um monte de fracassos.
3 – Acho que, como pessoa, sou um completo fracasso.
4. 0 – Tenho tanto prazer em tudo como antes.
1 – Não sinto mais prazer nas coisas como antes. 2 – Não encontro um prazer real em mais nada. 3 – Estou insatisfeito ou aborrecido com tudo.
5. 0 – Não me sinto especialmente culpado.
1 – Eu me sinto culpado grande parte do tempo.
2 – Eu me sinto culpado na maior parte do tempo. 3 – Eu me sinto sempre culpado.
6. 0 – Não acho que esteja sendo punido. 1 – Acho que posso ser punido.
2 – Creio que serei punido.
3 – Acho que estou sendo punido.
7. 0 - Não me sinto decepcionado comigo mesmo. 1 – Estou decepcionado comigo mesmo.
3 – Estou enjoado de mim 3 – Eu me odeio.
8. 0 – Não me sinto, de qualquer modo, pior que os outros.
1 – Sou crítico em relação a mim por minhas fraquezas ou erros. 2 – Eu me culpo sempre por minhas falhas.
3 – Eu me culpo por tudo de mal que acontece.

9. 0 – Não tenho quaisquer idéias de me matar.
1 – Tenho idéias de me matar, mas não as executaria. 2 – Gostaria de me matar.
3 – Eu me mataria se tivesse oportunidade.
10. 0 – Não choro mais do que o habitual.
1 – Choro mais agora do que costumava. 2 – Agora, choro o tempo todo.
3 – Costumava ser capaz de chorar, mas agora não consigo, mesmo que o queira.
11. 0 – Não sou mais irritado agora do que já fui.
1 – Fico aborrecido ou irritado mais facilmente do que costumava. 2 – Atualmente me sinto irritado o tempo todo.
3 – Não me irrito mais com as coisas que costumava me irritar.
12. 0 – Não perdi o interesse pelas outras pessoas.
1 – Estou menos interessado pelas outras pessoas do que costumava estar. 2 – Perdi a maior parte do meu interesse pelas outras pessoas.
3 – Perdi todo o meu interesse pelas outras pessoas.
13. 0 – Tomo decisões tão bem como antes.
1 – Adio as tomadas de decisões mais do que costumava.
2 – Tenho mais dificuldade em tomar decisões do que antes. 3 – Não consigo mais tomar decisões.
14. 0 – Não acho que minha aparência esteja pior do que costumava ser. 1 – Estou preocupado por estar parecendo velho ou sem atrativos.
2 – Acho que há mudanças permanentes na minha aparência que me fazem parecer sem atrativos.
3 – Acredito que pareço feio.
15. 0 – Posso trabalhar tão bem quanto antes.
1 – Preciso de um esforço extra para fazer alguma coisa. 2 – Tenho que me esforçar muito para fazer alguma coisa. 3 – Não consigo mais fazer trabalho algum.
16. 0 – Consigo dormir tão bem quanto o habitual. 1 – Não durmo tão bem quanto costumava.
2 – Acordo uma ou duas horas mais cedo que habitualmente e tenho dificuldade em voltar a dormir.

- 3 – Acordo várias horas mais cedo do que costumava e não consigo voltar a dormir.
17. 0 – Não fico mais cansado do que o habitual.
1 – Fico cansado com mais facilidade do que o habitual. 2 – Sinto-me cansado ao fazer qualquer coisa.
3 – Estou cansado demais para fazer qualquer coisa.
18. 0 – Meu apetite não está pior do que o habitual.
1 – Meu apetite não é tão bom quanto costumava ser. 2 – Meu apetite está muito pior agora.
3 – Não tenho mais nenhum apetite.
19. 0 – Não tenho perdido muito peso, se é que perdi algum recentemente.
1 – Perdi mais de dois quilos e meio. 2 – Perdi mais de cinco quilos.
3 – Perdi mais de sete quilos.
Estou tentando perder peso de propósito, comendo menos: () Sim () Não
20. 0 – Não estou mais preocupado com minha saúde do que o habitual.
1 – Estou preocupado com problemas físicos, tais como dores, indisposição no estômago ou prisão de ventre.
2 – Estou muito preocupado com problemas físicos e é difícil pensar em outra coisa. 3 – Estou tão preocupado com problemas físicos que não consigo pensar em qualquer outra coisa.
21. 0 – Não notei qualquer mudança recente no meu interesse por sexo. 1 – Estou menos interessado por sexo do que costumava estar.
2 – Estou muito menos interessado em sexo atualmente. 3 – Perdi totalmente o interesse por sexo.

ANEXO 3: Escala de Avaliação de Ansiedade de Hamilton (HAM-A)

Nome: _____ Data: _____

- 0 = ausente
 1 = intensidade leve
 2 = intensidade média 3 = intensidade forte
 4 = intensidade máxima

1. Humor Ansioso Inquietação, temor ao pior, apreensão quanto ao presente ou futuro, maus pressentimentos, irritabilidade.	
2. Tensão Sensação de tensão, fadiga, reações de sobressalto, choro fácil, tremores, sensação de cansaço, incapacidade de relaxar, agitação	
3. Medos Do escuro, de estranhos, de ficar sozinho, de animais de grande porte, do trânsito, de multidões.	
4. Insônia Dificuldade de adormecer, sono interrompido, sono insatisfatório, fadiga ao acordar, sonhos penosos, pesadelos, terror noturno.	
5. Dificuldades Intelectuais Dificuldade de concentração, falhas de memória.	
6. Humor deprimido Perda de interesse, oscilação de humor, depressão, despertar precoce.	
7. Somatizações motoras Dores musculares, rigidez muscular, contrações espásticas, contrações involuntárias, ranger de dentes, voz insegura.	
Total Parcial	
8. Somatizações sensoriais Ondas de frio ou calor, sensações de fraqueza, visão borrada, sensação de picadas, formigamento, sensações auditivas, zumbidos	
9. Sintomas cardiovasculares Taquicardia, palpitações, dores no peito, sensação de desmaio, sensação de extra-sístoles.	
10. Sintomas respiratórios Pressão no peito ou aperto no peito, dispnéia, respiração suspirosa, sensação de sufocação.	
11. Sintomas gastrintestinais Deglutição difícil, aerofagia, dispepsia, sensação de plenitude gástrica, dor pré- ou pós - prandial, pirose, meteorismo, náuseas, vômitos, sensação de vazio gástrico, diarreia, constipação, cólicas.	
12. Sintomas geniturinários Polaciúria, urgência miccional, amenorréia, frigidez, diminuição da libido.	
13. Sintomas neurovegetativos Boca seca, palidez, tendência à sudorese, tonturas, cefaléia de tensão.	
14. Comportamento durante a entrevista Tenso, pouco à vontade, inquieto, agitação das mãos (mexer, retorcer, tremores), franzir a testa, face tensa.	
Total Geral	

ANEXO 4: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa intitulada “Eixo Cérebro-Esôfago em obesos e não obesos e suas relações com sintomas sugestivos de DRGE, Imagem por Ressonância Magnética funcional do cérebro, Impedanciometria basal do esôfago e distribuição da gordura abdominal”, realizada pelos pesquisadores Marcelo Ribeiro, José Carlos Tomiozzo Júnior, Cassiano Mateus Forcelini e Fernando Fornari, vinculados ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia, Faculdade de Medicina da UFRGS. Você foi escolhido por ter sobrepeso e queixar-se (ou não) de pirose (azia), na ausência de inflamação do esôfago (conforme mostrou sua endoscopia).

Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador, (ou com a entidade vinculada) ou para o seu atendimento e tratamento.

O objetivo desta pesquisa é verificar se pessoas com sobrepeso (obesas) apresentam sensibilidade do esôfago diferente das pessoas que não são obesas.

A pesquisa será realizada na Clínica Kozma. Será realizada entrevista pelos pesquisadores, aonde você será solicitado a responder a questionários sobre sintomas da doença do refluxo e sobre como se sente emocionalmente, o que levará aproximadamente 20 minutos. Caso você achar que alguma pergunta cause algum constrangimento a você, não precisa responder. O próximo passo será a introdução de sonda fina por uma narina, amortecida com gel anestésico. Quando a sonda chegar na garganta, você tomará água para que a mesma progrida para o esôfago. Você permanecerá sentado por 5 a 7 minutos para medir a impedância do esôfago. A seguir a sonda será trocada por outra para permitir a perfusão de ácido no esôfago durante a ressonância. você permanecerá deitado numa maca por 15 minutos, sendo que nos últimos 10 minutos você poderá sentir alguma azia provocada pela introdução de líquido acidificado intercalado com água no seu esôfago. Este líquido acidificado não provocará feridas no esôfago. E se você sentir azia, passará assim que a sonda for retirada, seguido da ingestão de água. Após a ressonância, a sonda de impedância será introduzida novamente para monitorar o esôfago por mais 5 a 7 minutos. Por último far-se-á uma tomografia rápida de uma parte do seu abdome, que corresponde a altura do umbigo, para quantificação da gordura abdominal.

Ao participar, os riscos para você serão mínimos. Você poderá sentir desconforto no nariz e na garganta quando realizar a passagem da sonda flexível pelo nariz. A exposição à

radiação durante a tomografia será baixa, equivalente a um Rx de tórax com deglutição de contraste. Você não será beneficiado(a) diretamente pela pesquisa, mas você estará ajudando a entender como funciona a sensibilidade do esôfago de pessoas obesas.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais, isto é, só os pesquisadores saberão o que foi respondido e o seu nome não será divulgado em nenhum momento, sendo mantido sigilo sobre sua participação. As suas respostas não serão divulgadas de modo que permitam a sua identificação.

Você não será recompensado(a) financeiramente pela sua participação.

Ao assinar este documento, você estará concordando em participar da pesquisa e que entendeu os objetivos, riscos e benefícios da sua participação e todas as informações que lhe foram prestadas pelos pesquisadores.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço dos pesquisadores, podendo tirar suas dúvidas sobre a pesquisa e sua participação, a qualquer momento.

Pesquisadores:

Nome: Fernando Fornari
Assinatura: _____
Telefone: 54.96921636

Nome: Marcelo Ribeiro
Assinatura: _____
Telefone: 54.81161231

Participante:

Nome: _____
Assinatura: _____
Telefone: _____

O presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi elaborado de acordo com a Res. CNS 196/96 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo.

O participante pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo pelo telefone (0xx54) 3316-8370.