



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Ciências da Saúde

Esófago de Barrett
Contributos para a definição do conceito
e para o conhecimento do risco de progressão
neoplásica numa população portuguesa

António Ildefonso Dias Pereira

Tese para obtenção do Grau de Doutor em
Medicina
(3º ciclo de estudos)

Orientadora: Professora Doutora Paula Chaves

Covilhã, Setembro de 2015

Dedicatória

À minha mulher, Linda

Pela partilha duma vida

Aos meus filhos, Lúcia e Pedro

Pelo sentido da vida

À Mãe

Pela vida

À memória dos meus pais, Maria Alice e Manuel Maria

Pelas lições de vida

À memória do Dr. Francisco da Costa Mira

Pelo exemplo de vida.

Agradecimentos

Quando chegamos ao final deste desafio numa idade, biológica e profissional, já avançada, corremos sempre o risco de, inadvertidamente, esquecer pessoas merecedoras deste agradecimento.

Assim, não poderei deixar de fazer um agradecimento muito especial a todos, mesmo a todos, que de qualquer forma contribuíram para que atingisse este desafio académico, reflexo da minha actividade profissional enquanto médico.

À minha família que soube olhar para este meu desafio como se também fosse seu e me apoiou sempre, sempre, mesmo nos momentos mais difíceis.

À Professora Doutora Paula Chaves por me ter lançado este desafio e ter aceite ser minha orientadora.

À Paula Chaves, companheira de percurso dos mais de 20 anos de consensos e divergências sobre o esófago de Barrett, na implementação do Programa de Vigilância e na criação e desenvolvimento do Grupo de Estudos de Esófago de Barrett. E também pela sua amizade.

A todos, médicos, biólogos, técnicos, que integraram o Grupo de Estudos de Esófago de Barrett e contribuíram com as suas ideias e o seu trabalho para a consideração de que é credor.

A todos os médicos do Serviço de Gastreenterologia do IPOLFG, EPE que integro há 25 anos.

A todos os médicos, enfermeiros, assistentes administrativos e operacionais do Serviço, sem os quais o Programa de Vigilância do Esófago de Barrett não teria sido possível, quer na vertente operacional, quer dos registos.

Ao Professor Doutor Nobre Leitão pela confiança que em mim depositou, pelo apoio que sempre me prestou e pela amizade com que me distinguiu.

À Dra. Maria José Lopes por me ter encantado pela patologia do esófago.

Resumo

O esófago de Barrett resulta da substituição metaplásica do epitélio pavimentoso que normalmente recobre o esófago distal por epitélio colunar, associada ao refluxo gastro-esofágico. É uma condição pré-maligna através da sequência metaplasia → displasia → adenocarcinoma, sendo recomendada a vigilância endoscópica. Contudo a definição de esófago de Barrett's não é consensual, o que é um problema relevante pois o número de doentes em vigilância será diferente consoante se considere ou não a metaplasia intestinal como um pré-requisito para o diagnóstico. A displasia é o único marcador de risco validado na prática clínica, mas a concordância intra e interobservador é fraca. Portugal continua a ser um país de baixa incidência de adenocarcinoma do esófago, desconhecendo-se se tal se relaciona com uma baixa prevalência ou um baixo risco de cancro do esófago de Barrett.

O objectivo principal desta Tese é determinar a incidência de adenocarcinoma e de displasia de alto grau numa população de doentes portugueses com esófago de Barrett.

Os objectivos secundários são identificar variáveis demográficas e clínicas associadas à progressão neoplásica no esófago de Barrett; avaliar o risco de progressão para adenocarcinoma e displasia de alto grau associado ao diagnóstico de displasia de baixo grau e indefinido para displasia; avaliar o significado dos segmentos de esófago revestidos por epitélio colunar sem evidência de metaplasia intestinal.

Dos resultados há a salientar:

1. A incidência baixa de adenocarcinoma (0.9 casos por 1000 doentes/ano de vigilância) e de displasia de alto grau/adenocarcinoma (3.1 casos por 1000 doentes/ano de vigilância) na população portuguesa com esófago de Barrett.
2. A extensão do esófago de Barrett como única variável com impacto no risco de displasia de alto grau/adenocarcinoma. A incidência observada nos segmentos curtos (≤ 3 cm) foi muito baixa (0,7 casos por 1000 doentes/ano de vigilância).
3. Concordância intra-observador e inter-observador semelhante (moderada) no diagnóstico de displasia de baixo grau. Se dois ou mais patologistas concordaram no diagnóstico prévio de displasia de baixo grau, a taxa de progressão para displasia de alto grau e adenocarcinoma observada foi muito elevada (62,5% no intervalo de 1 a 8 anos).
4. O esófago revestido por epitélio colunar sem metaplasia intestinal com 2 ou mais centímetros de extensão (n=15) partilha semelhanças clínicas e endoscópicas com o esófago de Barrett, excepto que os doentes são mais jovens. A metaplasia intestinal foi documentada após vigilância média de 7,1 anos.

5. As heterotopias de mucosa gástrica extensas do esófago distal são raras, mas muitas vezes diagnosticadas como esófago de Barrett. Descrevem-se critérios endoscópicos e histológicos que os permitem distinguir. Contudo alguns *guidelines* permitem classificá-las como esófago de Barrett.
6. A expressão quase universal de vilina, proteína que se localiza no prato estriado, foi observada no epitélio cárdico de uma população pediátrica com doença do refluxo.

Estes resultados permitem concluir:

1. O baixo risco de adenocarcinoma e displasia de alto grau/adenocarcinoma com esófago de Barrett aconselha à reavaliação dos intervalos de vigilância actualmente propostos pelos *guidelines*, nomeadamente para os segmentos curtos onde intervalos de cinco anos parecem seguros.
2. A evidência recente da indicação para ablação endoscópica do esófago de Barrett com displasia de baixo grau confirmada por dois patologistas gastrointestinais experientes é aplicável no nosso país .
3. A definição actual de esófago de Barrett ainda não é suficientemente precisa para incluir todos os doentes em risco de cancro do esófago e para excluir os que não têm risco.

Palavras-chaves: esófago de Barrett, esófago revestido por epitélio colunar, metaplasia intestinal, adenocarcinoma do esófago, displasia, vigilância.

Abstract

Barrett's esophagus results from the metaplastic replacement of the normal squamous lining of the distal esophagus by a columnar epithelium, related to gastro-esophageal reflux. Barrett's esophagus is recognized as a pre-neoplastic condition through the sequence metaplasia → dysplasia → adenocarcinoma, and endoscopic surveillance is advised by the guidelines. However Barrett's esophagus definition lacks consensus. The question of the definition of Barrett's esophagus is relevant because the number of patients in surveillance will be very different depending upon intestinal metaplasia being or not a prerequisite for diagnosis. Dysplasia is the sole validated clinical cancer risk factor, but intraobserver and interobserver agreement was observed to be weak. Portugal remains a country with low incidence of esophageal adenocarcinoma, and it is not known if this is related to a low prevalence or to a low cancer risk of Barrett's esophagus.

The principal objective of this Thesis is to calculate the incidence of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in cohort of Portuguese Barrett's patients. Secondary objectives are to identify clinical and demographics variables associated with cancer risk in Barrett's esophagus; to evaluate the risk of high-grade dysplasia or adenocarcinoma associated with the diagnosis of low-grade dysplasia and indefinite for dysplasia; to evaluate the clinical meaning of columnar-lined esophagus without intestinal metaplasia.

From the results obtained in these studies, we must note:

1. A low incidence of adenocarcinoma (0.9 cases per 1000 patient/year of follow-up) and high-grade-dysplasia/adenocarcinoma (3.1 cases per 1000 patient/year of follow-up) in the Portuguese population with Barrett's esophagus.
2. Barrett's esophagus length was the sole variable associated with high-grade dysplasia/adenocarcinoma risk. A very low incidence of high-grade dysplasia/adenocarcinoma (0.7 cases per 1000 patient/year of follow-up) was observed in short segments (≤ 3 cm).
3. Intraobserver and interobserver agreement in the diagnosis of low-grade dysplasia was similar (moderate). If two or more pathologists agreed with a previous diagnosis of low-grade dysplasia, the rate of progression to high-grade dysplasia and adenocarcinoma was very high (62.5%).
4. Columnar-lined esophagus without intestinal metaplasia with 2 or more centimeters in length (n=15) had clinical and endoscopic similarities with our cohort of Barrett's esophagus, except for a younger age. Intestinal metaplasia was documented in 60% of the patients after a mean follow-up of 7.1 years.
5. Large lower esophageal gastric heterotopias are rare, but frequently misdiagnosed as

Barrett's esophagus. There are endoscopic and histological features allowing correct diagnosis. However, some guidelines allow classifying these patients as having Barrett's esophagus.

6. An almost universal expression of the brush border protein villin was observed in cardiac epithelium from a pediatric population with reflux disease.

The results from these studies allow for the following conclusions:

1. The low risk of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus in Portugal justifies reassessment of surveillance intervals actually proposed by the guidelines, namely for short segments for which 5-year intervals seems safe.
2. The recent evidence favoring Barrett's ablation in patients with low-grade dysplasia diagnosis agreed by two experienced gastrointestinal pathologists can be introduced in clinical practice in our country.
3. Present Barrett's esophagus definitions are not yet sufficiently precise to include all the patients with esophageal cancer risk and to exclude those with no risk.

Key words: Barrett's esophagus; columnar-lined esophagus; intestinal metaplasia; esophageal adenocarcinoma; dysplasia; surveillance.

Índice

Dedicatória	iii
Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract	ix
1. Introdução	1
2. Revisão da literatura.....	5
2.1. Perspectiva histórica.....	5
2.1.2. A descrição inicial de Norman Barrett	7
2.1.3. Os contributos de Lortat-Jacob	8
2.1.4. Da descrição inicial à sua revisão.....	9
2.1.5. A revisão dos conceitos de Norman Barrett	12
2.1.6. A revisão dos conceitos de Lortat-Jacob	12
2.1.7. O conhecimento da entidade no final dos anos 50.....	13
2.2. Da natureza congénita ou adquirida	14
2.2.1. Da evidência clínica	14
2.2.2. Da evidência experimental.....	15
2.2.3. O postulado de Hayard.....	16
2.3. Da relação com o adenocarcinoma do esófago.....	17
2.3.1. Do risco de adenocarcinoma e da necessidade de vigilância	19
2.3.2. Da incidência do adenocarcinoma do esófago	20
2.4. Do conceito operacional de esófago de Barrett.....	21
2.4.1. O espectro histológico do esófago de Barrett	21
2.4.2. Do conceito quantitativo ao conceito qualitativo.....	22
2.5. Questões actuais.....	23
2.5.1. Do conceito de esófago de Barrett	23
2.5.2. Da necessidade da documentação de metaplasia intestinal	26
2.5.3. Da natureza e significado do epitélio de tipo cárdico	27
2.5.4. Do risco de cancro no esófago de Barrett	29
2.5.5. Do significado do diagnóstico de displasia	33
2.5.6. Do significado do diagnóstico de displasia de baixo grau.....	34
2.5.7. Do significado do diagnóstico de indefinido para displasia.....	36
3. Problema de Investigação.....	39
4. Objectivos	41
5. Materiais e métodos	43
6. Artigos publicados e submetidos.....	45

6.1. Low risk of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in patients with non-dysplastic Barrett's esophagus: results from a cohort from a low esophageal adenocarcinoma incidence country	47
6.2. Dysplasia in Barrett's esophagus: intraobserver and interobserver concordance in diagnosis and classification	63
6.3. Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years	77
6.4. Long segments of columnar-lined lower esophagus are not always metaplastic	87
6.5. Characteristics of cardiac epithelium at the esophagogastric junction of a pediatric population with gastroesophageal reflux	93
7. Discussão final	101
8. Conclusões	113
9. Bibliografia	115

1. Introdução

Seis décadas após a descrição de Norman Barrett ¹, vários consensos foram estabelecidos em torno do esófago de Barrett. Nomeadamente, a associação com o refluxo gastro-esofágico e a natureza de condição pré-maligna. No entanto, mantém-se uma entidade controversa, ou pelo menos não consensual, em relação a outros aspectos, alguns estruturantes do próprio conceito e importância, como os critérios de diagnóstico e o risco de cancro que lhe está associado, factor que o conduziu de curiosidade clínica a entidade nosológica relevante.

Assim, é hoje consensual ²⁻⁶ que a entidade resulta da substituição metaplásica - entendida como a substituição de um epitélio adulto por outro epitélio adulto em resposta a uma agressão - do epitélio pavimentoso, que normalmente recobre o esófago distal, por epitélio colunar. É consensual que o aspecto macroscópico resultante dessa substituição é facilmente reconhecível e reconhecido durante a endoscopia pela presença de uma mucosa vermelho-aveludada, de tipo gástrico, acima da transição esófago-gástrica. É consensual a necessidade de comprovação histológica de que esse epitélio é, na realidade, um epitélio colunar. É consensual que a mucosa colunar metaplásica é constituída por uma mistura de 3 epitélios: juncional ou cárdico, atrófico fúndico ou oxíntico-cárdico e colunar especializado ou metaplasia intestinal. É consensual que a progressão neoplásica no esófago de Barrett se faz segundo a sequência metaplasia, displasia, adenocarcinoma e que o único marcador de risco de cancro no esófago de Barrett validado até hoje na prática clínica é a displasia.

Há, no entanto, outras áreas em que até hoje o consenso não foi possível. Nomeadamente no que diz respeito aos critérios utilizados para o seu diagnóstico. Por um lado, existem definições distintas e não sobreponíveis, no Ocidente e no Oriente, das referências que balizam o reconhecimento da transição esófago-gástrica ⁷. No hemisfério ocidental, o conceito endoscópico da transição esófago-gástrica corresponde ao limite proximal das pregas gástricas. Já no Oriente, tal conceito corresponde ao limite distal dos vasos em paliçada. Existe evidência que estas duas referências podem não ser coincidentes.

Também não é consensual o tipo de epitélio colunar que é necessário evidenciar para que o diagnóstico de esófago de Barrett possa ser estabelecido. Para a maioria das sociedades científicas ^{2, 3, 5, 6}, o diagnóstico só deve ser feito face à demonstração da presença de metaplasia intestinal em biopsias efectuadas no esófago, pois apenas este tipo de epitélio se associará ao risco de progressão neoplásica. Contudo, para a British Society of Gastroenterology (BSG) ⁴ a demonstração de epitélio colunar em biopsias efectuadas no esófago, num contexto endoscópico adequado, é suficiente para se estabelecer o diagnóstico. A repercussão da utilização de cada um dos conceitos na dimensão da população com o diagnóstico de esófago de Barrett, na magnitude do risco de progressão neoplásica e na vigilância endoscópica são questões ainda não completamente esclarecidas.

O risco de progressão neoplásica associado ao esófago de Barrett e a indicação, ou não, para vigilância endoscópica também não são consensuais. Desde os estudos iniciais retrospectivos do início da década de 80 do século passado⁸⁻¹⁰, de base endoscópica e pequenos coortes, aos estudos recentes de base populacional e com grandes coortes^{11, 12}, o risco estimado diminuiu cerca de oito vezes. O consenso inicial da indicação para vigilância endoscópica resultante de um risco anual de cerca de 1%^{13, 14}, foi-se progressivamente transformando em controvérsia em torno do custo-efectividade associado a riscos anuais tão pequenos quanto 0,12%¹². Para além da controvérsia associada ao risco absoluto de progressão neoplásica do esófago de Barrett, existem outras questões não respondidas, nomeadamente se as marcadas diferenças geográficas de incidência do adenocarcinoma do esófago¹⁵ (a neoplasia maligna cuja incidência mais aumentou nas últimas quatro décadas nos países industrializados do ocidente) resultam de prevalências diferentes de esófago de Barrett ou de riscos diferentes de progressão neoplásica. De igual modo, existe um conhecimento muito limitado sobre a repercussão das metodologias dos estudos (de base endoscópica ou de base populacional) no risco estimado de progressão neoplásica.

Também não é consensual o benefício da vigilância endoscópica, havendo evidência contraditória em confronto. Por um lado, a do diagnóstico mais precoce, do melhor prognóstico e da menor mortalidade por adenocarcinoma do esófago em doentes com esófago de Barrett submetidos a vigilância endoscópica¹⁶⁻¹⁹. Por outro, a da esperança de vida semelhante à da população em geral e a do adenocarcinoma do esófago ser uma causa incomum de morte nos doentes com esófago de Barrett^{20, 21}. Contudo, existem estudos que mostram um aumento da mortalidade na população com esófago de Barrett, dependente de um elevado número de mortes por adenocarcinoma do esófago²².

O consenso em torno da displasia como marcador de risco de progressão para cancro, numa era de disseminação de técnicas simples e reproduzíveis de ablação da mucosa, gerou a controvérsia do benefício e indicação para ablação do esófago de Barrett com displasia nos diferentes graus em que é classificada²³. Controvérsia amplificada pela reconhecida dificuldade no reconhecimento e graduação da displasia, sobretudo nos graus mais ligeiros, e do impacto dessa dificuldade na reprodutibilidade da sua classificação na prática clínica²⁴.

Portugal é um país que mantém uma relativa baixa incidência de adenocarcinoma do esófago. Embora a classificação dos diferentes tipos histológicos do cancro do esófago numa única entidade dificulte um conhecimento profundo da sua evolução, dados recentes do ROR Sul²⁵ mostram que o carcinoma pavimento celular continua a ser, de longe, o tipo histológico mais prevalente, representando o adenocarcinoma apenas cerca de 25% do total de neoplasias esofágicas diagnosticadas em 2008 e 2009 na sua área geográfica. O conhecimento sobre o esófago de Barrett no nosso país é escasso. Não existem estudos de prevalência (escassos também na literatura mundial) nem sobre o risco de cancro na população portuguesa com esófago de Barrett. Deste facto resulta não ser claro se a baixa incidência de adenocarcinoma

do esófago em Portugal é consequência da baixa prevalência desta condição pré-maligna (e o esclarecimento desta questão passaria pela realização de estudos de metodologia e implementação complexas) ou se é consequência de um risco baixo de progressão neoplásica na população portuguesa com esófago de Barrett (questão que na realidade do país apenas poderá ser respondida com um estudo tipo coorte com um período de vigilância longo).

2. Revisão da literatura

Tradicionalmente associa-se a descrição desta entidade ao autor a cujo nome ficou ligada ¹. Contudo se recuarmos mais cinco décadas, encontraremos a descrição por Tileston ²⁶ da ocorrência de úlceras pépticas no esófago, num contexto macroscópico e microscópico muito semelhante ao que ficou conhecido por úlcera de Barrett - úlcera profunda ocorrendo no esófago, numa mucosa com características semelhantes à da mucosa gástrica. É ainda possível encontrar na literatura descrições anteriores a Barrett e a Tileston, feitas por Albers (1839) e por Quincke (1879), de entidades com semelhanças à que ficou conhecida como úlcera de Barrett ²⁶.

Desde a descrição de Norman Barrett que, com base num conceito puramente histológico, considerou que o órgão intratorácico onde observou a presença de úlceras era o estômago ¹, já que o esófago seria revestido por epitélio pavimentoso, várias questões emergiram na discussão científica em torno desta entidade. Nomeadamente, a questão do órgão nela envolvida ser o estômago ou o esófago ^{1, 27, 28}; a questão da natureza congénita ou adquirida ²⁷⁻²⁹; mais tarde, a questão do espectro histológico que a caracteriza ³⁰; atravessando toda a história do esófago de Barrett, a questão da sua associação com o adenocarcinoma do esófago e, também, da junção esófago-gástrica e do potencial risco de cancro que lhe está associado ³¹⁻³³. Permanecendo até à actualidade, a questão dos critérios de diagnóstico ^{3, 4}, muito mais de natureza operacional (dependente do facto de ser uma condição pré-maligna) do que etiopatogénica. Para lá da discussão destas questões estruturantes da compreensão clínica do esófago de Barrett, muita investigação foi realizada e muito conhecimento produzido acerca dos mecanismos subjacentes ao processo metaplásico e à progressão neoplásica, mas que estão para além dos objectivos da presente revisão.

2.1. Perspectiva histórica

Embora desde o final do século XIX/início do século XX tivessem sido relatados casos e publicados trabalhos versando entidades que se assemelhavam ao que hoje é conhecido como esófago de Barrett, este epónimo foi estabelecido a partir de uma publicação de um cirurgião inglês de origem australiana. Em 1950, Norman Barrett publicou um trabalho no *British Journal of Surgery* intitulado “*Chronic peptic ulcer of the oesophagus and oesophagitis*” ¹, no qual, a partir dos dados publicados e das suas próprias observações, estabeleceu que as úlceras com aspecto de úlceras gástricas crónicas observadas num segmento do tubo digestivo intra-torácico cuja mucosa adjacente era de tipo gástrico, correspondiam de facto, ao contrário do defendido anteriormente por outros autores, a úlceras com localização no estômago. Tal conclusão era baseada na sua convicção que o tipo de mucosa era a questão chave para a definição do órgão em questão. Assim, ao contrário dos anatomistas para quem

o esófago era a parte do tubo digestivo que se estendia no mediastino posterior entre a faringe e o estômago (tendo este uma localização abdominal e estando parcialmente envolvido por peritoneu), Barrett considerava que qualquer segmento recoberto por mucosa gástrica, independentemente da aparência externa ou da morfologia, funcionava como estômago e era estômago ¹. E assumia que o esófago era recoberto por epitélio pavimentoso. Assim, para o autor, a entidade que ficou posteriormente conhecida pela designação de úlcera de Barrett ocorria num segmento intra-torácico de estômago, a grande maioria no contexto de um esófago curto congénito. Estas úlceras, nas descrições anteriormente publicadas (Tileston, 1906 ²⁶; Stewart e Hartfall ³⁴, 1929; Lyall, 1937 ³⁵) e nas realizadas pelo próprio autor tinham uma localização no mediastino, numa área de transição de mucosa pavimentosa para mucosa gástrica. A partir de convicções não fundamentadas de que o tipo de revestimento mucoso definia os órgãos em questão e que a linha de junção dos dois epitélios determinava a transição entre órgãos, Barrett colocou em causa os conceitos estabelecidos nos 50 anos anteriores por diversos autores: localização esofágica por vezes associada à presença de mucosa gástrica ectópica.

2.1.1. A entidade antes de Norman Barrett

No trabalho *“Peptic ulcer of the esophagus”* publicado em 1906, Tileston ²⁶ reporta 3 casos de úlcera péptica do esófago (que define como uma úlcera situada no segmento distal do esófago e com aspecto muito semelhante à da úlcera do estômago) e revê os casos até então publicados na literatura. Embora atribua a Albers (1839) o relato do primeiro caso de úlcera péptica do esófago, Tileston apenas considera os 41 casos publicados após os relatos de Quincke (1879), a quem atribui a demonstração da natureza péptica das úlceras. De acordo com a revisão que fez ²⁶, a lesão atinge todos os grupos etários, embora seja mais frequente em indivíduos a partir da 4ª década, atinge sobretudo o sexo masculino, tem uma associação com patologias que favoreçam a regurgitação, tem similitudes macroscópicas e microscópicas com a úlcera gástrica e tem localização preferencial no esófago distal, embora tenha sido descrita tão proximal quanto a carina. Nos 41 casos da literatura, apenas treze têm descrição da microscopia da úlcera e em apenas num (Fränkel, 1899) há referência a “glândulas do estômago no esófago”. Nos 3 casos de Tileston, existe apenas avaliação microscópica das lesões em dois, em material recolhido em autópsias realizadas 91 e 3,5 horas após o óbito. Em ambos os casos, o epitélio do esófago colhido na proximidade das úlceras estava ausente, talvez devido à autólise. A escassa informação no que concerne ao tipo de mucosa esofágica onde estas úlceras pépticas se localizavam relaciona-se muito provavelmente com as deficientes condições de conservação disponíveis na altura, que favoreciam a autólise do epitélio colunar.

O facto de a maioria dos casos publicados durante a primeira metade do século XX terem origem em necrópsias, com os problemas inerentes à conservação dos tecidos, é

provavelmente responsável pela escassez de informação sobre os aspectos histológicos da mucosa adjacente a estas úlceras. Resulta também da leitura dos trabalhos publicados um enfoque na descrição macro e microscópica das úlceras, sendo dada pouca relevância às características da mucosa onde elas tinham sede. As úlceras pépticas do esófago eram, assim, comparadas às úlceras que ocorriam no estômago mais pelas suas características do que pelo facto de ocorrerem em mucosa de tipo gástrico ²⁶.

Lyall ³⁵, em 1937, relata oito casos de úlcera péptica do esófago. Sete relacionados com a digestão ante-mortem do epitélio pavimentoso (das quais quatro ocorreram em associação com úlceras gástricas e duodenais, patologia relacionada com hipercloridia) e uma que ocorreu num contexto da presença de mucosa gástrica no esófago, predominantemente de tipo pilórico e com muito poucas células parietais.

Allison ²⁷ em 1948 publica um trabalho onde inclui 74 casos de úlcera péptica do esófago (67 em adultos, das quais 4 ocorrendo após ressecção cirúrgica do esófago distal e fundo gástrico, e 7 em crianças com idade inferior a 5 anos) e descreve três aspectos histológicos observados nas biopsias obtidas por endoscopia, assumindo a dificuldade de se conhecer com exactidão o local da sua obtenção. Se obtidas na úlcera, poderiam apenas mostrar tecido de granulação, com ou sem material necrótico fibrino-purulento; se obtidas proximalmente à úlcera mostravam epitélio pavimentoso com inflamação com características de esofagite de refluxo; se obtidas distalmente à úlcera mostravam inflamação crónica da mucosa gástrica. Allison ²⁷ assume neste seu trabalho que a maioria das úlceras que descreve se associava a um defeito diafragmático; que um pequeno número, não discriminado, se associava à presença de mucosa gástrica heterotópica; que em nenhum caso coexistia esófago curto congénito. De realçar que Allison ²⁷ considera que a membrana mucosa gástrica heterotópica observada no esófago, quer na forma de ilhéus ou por extensão directa ascendente a partir do estômago, é uma das causas da presença frequente ou constante de ácido no esófago.

2.1.2. A descrição inicial de Norman Barrett

O trabalho de Norman Barrett ¹ publicado em 1950, apesar da interpretação errónea do órgão sede da lesão e da sua natureza congénita, contém informação muito relevante. Em primeiro lugar o autor descreve 3 casos de úlcera indubitavelmente associadas à presença de mucosa de tipo gástrico no tubo digestivo intra-torácico (esófago versus estômago); em segundo lugar Barrett assume que os termos mucosa gástrica “ectópica” e “heterotópica” são sinónimos e caracterizam-se pela presença de áreas de epitélio gástrico completamente rodeadas de epitélio pavimentoso e, conseqüentemente, diferentes dos casos por ele descritos em que a mucosa gástrica observada em posição intra-torácica está em continuidade com a mucosa gástrica intra-abdominal; em terceiro lugar define, correctamente, a “esofagite de refluxo” como ocorrendo no epitélio pavimentoso.

Barrett reconhece que na literatura antes publicada sob a denominação de úlcera péptica do esófago, existem apenas quatro casos semelhantes entre si (Frænkel 1899; Tileston, 1906; Stewart e Hartfall, 1929; Lyall, 1937) e diferentes dos restantes casos publicados que corresponderiam a casos de úlceras associadas a esofagite de refluxo (localizadas em epitélio pavimentoso). Contudo no caso publicado por Stewart e Hartfall ³⁴, a descrição feita é a de uma típica heterotopia de mucosa gástrica localizada, como é hábito, no esófago pós-cricóide e constituída por mucosa de tipo fúndica com numerosas células parietais.

2.1.3. Os contributos de Lortat-Jacob

Contemporânea da publicação de Norman Barrett é a publicação em Paris da tese doutoral de Madeleine Smith-Lortat-Jacob intitulada “Cinq observations d’ulcère peptique de l’œsophage”. Na sequência dela, Jean Louis Lortat-Jacob publica em 1951 dois trabalhos intitulados “Les maladies peptiques de l’œsophage” ³⁶ e “Sept cas d’ulcère de l’œsophage” ³⁷. O facto de ter publicado ambos em francês e em revistas de circulação restrita fez com que os seus pontos de vista tivessem muito menos difusão que os defendidos por Norman Barrett. Apesar dos esforços para conseguir estas publicações apenas conseguimos ter acesso à compreensão e interpretação que Lortat-Jacob tinha da entidade nosológica a partir de opiniões expressas por terceiros e de citações que estes fizeram dos seus trabalhos. Mas parece consensual que para o autor a estrutura intra-torácica revestida por epitélio colunar era, atendendo às suas características anatómicas, esófago. Tal como Barrett, também ele privilegiava o carácter congénito da entidade.

O termo esófago curto (“short esophagus” na literatura inglesa e “brachyœsophage” na literatura francesa) foi, da mesma forma, amplamente utilizado pelos autores que se debruçaram sobre as úlceras pépticas do esófago. Quer Barrett ¹ quer Lortat-Jacob ³⁸ acreditavam que esta entidade teria uma natureza congénita, sendo contudo rara; em consequência da anomalia do desenvolvimento esofágico, existiria um segmento de estômago intra-torácico, com uma morfologia tubulizada; embora ambos reconhecessem que esse segmento, a que chamavam estômago intra-torácico, era desprovido de serosa e tinha uma vascularização anormal. Allison ²⁷, na sua série de 74 casos de úlcera péptica do esófago não observou nenhum associado a esófago curto congénito, embora admitisse a existência da entidade. Quer Allison quer Lortat-Jacob concordavam que a maioria dos esófagos curtos eram condições adquiridas devida a defeitos no diafragma que originavam hérnias de deslizamento, levando o refluxo a alterações inflamatórias e cicatriciais com encurtamento do esófago. Assim, sob a mesma designação, descreviam-se duas entidades, que correspondiam a esófago recoberto por epitélio colunar e a hérnia do hiato.

Passaram sete anos até que, em 1957, Barrett e Lortat-Jacob coincidem na interpretação, já anteriormente assumida por outros, de que, de facto, o órgão envolvido nesta entidade

patológica era o esófago. Como veremos mais adiante, propõem nomes distintos para esta entidade, e embora se aproximem na sua compreensão, mantêm divergências significativas em algumas questões.

2.1.4. Da descrição inicial à sua revisão

Mas qual foi a evidência publicada nos 7 anos que mediaram entre as descrições iniciais de ambos os autores e o aparente consenso a que chegaram?

Numa pesquisa da Medline, referente ao período de Janeiro de 1951 a Junho de 1957, utilizando como termos de pesquisa *“peptic ulcer of the esophagus”*, *“lower esophagus lined by gastric epithelium”*, *“esophagus lined by columnar epithelium”*, *“congenital short esophagus”* e *“brachyesophagus”* obtiveram-se cerca de oito dezenas de referências. A maioria delas diz respeito ao relato de casos clínicos isolados. Há a salientar quatro dessas publicações.

Em 1951, Boshier e Taylor ³⁹ publicam um caso de uma mulher com uma estenose esofágica ao nível do arco aórtico submetida a esofagoscopia que demonstrou a presença de mucosa tipo gástrico distal à estenose e que foi submetida a esofagectomia. Neste caso, embora a radiologia referisse a presença de uma pequena hérnia hiatal redutível, durante a cirurgia foi constatado que o estômago estava todo em posição intra-abdominal. Os autores realçam o facto de este caso se distinguir dos habitualmente descritos de estômago intratorácico e de esófago curto associado com a formação de estenose. Embora a sua interpretação fosse a de um caso de mucosa gástrica heterotópica, a análise histológica da peça mostrou dois aspectos relevantes. Por um lado, a presença de glândulas próprias do esófago sob o epitélio de tipo gástrico, demonstrando que o aspecto macroscópico do órgão havia sido correctamente interpretado pelo autores como esófago; por outro, a descrição da presença de múltiplas células caliciformes e a ausência de células parietais no segmento de mucosa “heterotópica”.

Em 1953, Alliston e Johnstone ⁴⁰ publicam os resultados de uma série de 148 casos de estenose do esófago, das quais 115 tinham ocorrido em mucosa revestida por epitélio pavimentoso, 10 em esófago revestido por mucosa gástrica, não podendo os restantes 23 casos ser caracterizados. Os autores descrevem em pormenor os aspectos clínicos, radiológicos, macroscópicos e histológicos de sete.

Excluindo o facto de todos os doentes excepto um serem mulheres, as descrições de Alliston e Johnstone ⁴⁰ incluem diferentes aspectos que hoje sabemos caracterizar o esófago de Barrett: presença de epitélio de tipo gástrico no esófago em continuidade com o estômago; a caracterização desse epitélio como de tipo cárdico; referência à presença de células caliciformes em três casos; associação muito frequente com hérnia de deslizamento;

presença de alterações inflamatórias (esofagite de refluxo); associação com “carcinoma gástrico com origem e limitado ao esófago” em um caso.

Para além destes aspectos, os autores apresentam argumentação convincente de, ao contrário do postulado por Barrett, o órgão intra-torácico revestido por mucosa de tipo gástrico ser esófago: a ausência de revestimento peritoneal, as características da muscular própria, a ocorrência de ilhéus de epitélio pavimentoso no seio da mucosa gástrica, a ausência de células parietais e a presença de glândulas típicas do esófago na submucosa.

Apesar de privilegiarem a sua natureza congénita (“*This is presumably, but not necessary, a congenital abnormality...*”), o facto das complicações a ela associadas se manifestarem, regra geral, numa idade avançada e de estarem associadas frequentemente à presença de hérnia do hiato, condição que consideram adquirida e ocorrendo tardiamente na vida (“*such a congenital abnormality has been associated in the present series and in others reported specimens with a sliding hernia of the true stomach*”), levou os autores ⁴⁰ a associarem a ocorrência das complicações (esofagite, estenose e úlcera) à acção do ácido. Em consequência do refluxo do conteúdo gástrico ou em consequência do ácido produzido pela mucosa gástrica que recobre o segmento de esófago. Quando discutem o processo de cicatrização das úlceras do epitélio pavimentoso esofágico associadas ao refluxo gástrico, sem a produção de estenose, os autores interrogam-se sobre a hipótese de a cicatrização num meio ácido ser mais provável fazer-se por epitélio gástrico do que esofágico. Se esta hipótese se confirmasse, os autores admitiam que alguns casos de presença de mucosa gástrica no esófago fosse adquirida e não congénita.

Alliston e Johnstone ⁴⁰ propõem a denominação de “esófago revestido por membrana de mucosa gástrica” para esta entidade (argumentando que a extensão da denominação não seria problema dada a sua raridade) e a designação de “úlceras de Barrett” para as úlceras de tipo gástrico que ocorriam no seu contexto. Ironicamente, cabe a estes dois autores uma grande parte da responsabilidade da entidade, que tão bem descreveram, ser hoje conhecida pelo epónimo de esófago de Barrett.

Em 1952, Morson e Belcher ³¹ publicaram um caso intitulado “*Adenocarcinoma of the oesophagus and ectopic gastric mucosa*”, que é considerado por muitos a primeira descrição de um adenocarcinoma com origem num esófago revestido por epitélio colunar. Tratava-se de um caso de uma lesão localizada ao nível da bifurcação da traqueia, cuja biopsia revelou um adenocarcinoma. O doente foi submetido a esofagectomia e a análise da peça revelou uma neoformação localizada ao nível da transição pavimento-colunar. Na descrição microscópica os autores afirmam que o “epitélio glandular mostrava aspectos diversos; perto do limite distal da excisão era muito semelhante a um epitélio de tipo cárdico, com células parietais entre as glândulas. Contudo, a maior parte tinha alterações inflamatórias e atróficas, com tendência para um tipo intestinal com muitas células caliciformes”.

Os autores discutem o caso à luz do conceito introduzido por Barrett de que o esófago é o segmento do tubo digestivo recoberto por epitélio pavimentoso e o “*gullet*” como o segmento do tubo digestivo que liga a faringe ao estômago. Nesta perspectiva o doente deveria ser encarado como tendo um esófago curto e um “*gullet*” normal e, neste contexto, de acordo com Barrett, tratar-se-ia de uma caso de um adenocarcinoma do estômago associado a um esófago curto. Contudo os autores, com base nos achados intra-operatórios de uma anatomia externa normal do estômago e do “*gullet*”, da ausência de hérnia do hiato e das características da camada muscular do segmento ressecado, concluíram que se tratava de uma adenocarcinoma primitivo do esófago, realçando os aspectos de inflamação crónica e atróficos da mucosa glandular que poderiam ter contribuído para o desenvolvimento do cancro. De acordo com o ponto de vista prevalente na altura, os autores interpretaram o epitélio glandular como uma heterotopia de natureza congénita.

Não obstante as referências anteriores de casos de adenocarcinoma do esófago, a observação publicada por Morson e Belcher ³¹ é historicamente importante na medida em que é a primeira descrição pormenorizada dos aspectos histopatológicos do adenocarcinoma primário do esófago associado ao esófago revestido por epitélio colunar.

Em 1953, Silva ⁴¹ publica na Revista Portuguesa de Medicina Militar um trabalho intitulado “Etiologia e patogénese da úlcera péptica do esófago com esófago curto e estômago parcialmente intra-torácico” que corresponde muito provavelmente ao primeiro relato desta entidade em Portugal. Apesar de não ter tido repercussão significativa na discussão que se travava na Europa em torno desta nova entidade, o relato tem importância histórica nacional.

Apesar da solidez da nova evidência que os trabalhos de Alliston e Johnstone ⁴⁰ e de Morson e Belcher ³¹ traziam à questão em discussão, a sua aceitação pela comunidade médica e científica envolvida nesta patologia (sobretudo cirurgiões, radiologistas e patologistas) não foi fácil nem pacífica. Por exemplo, Belsey ⁴², famoso cirurgião britânico, em trabalho publicado em 1954 intitulado “*Peptic ulcer of the esophagus*” manifesta várias objecções às ideias de Alliston e Johnstone ⁴⁰, nomeadamente à natureza do órgão envolvido, continuando a privilegiar a natureza do revestimento mucoso para a definição do órgão.

Nos quatro anos que mediaram entre a publicação de Alliston e Johnstone em que foi proposta a designação de “esófago revestido por membrana mucosa gástrica” e a reformulação por Norman Barrett, em 1957, dos conceitos anteriormente por si defendidos, o número de publicações em que a denominação foi utilizada foi muito escasso. Mahassen ⁴³ em 1955 e Som ⁴⁴ em 1956 publicaram dois casos de esófago revestido por mucosa gástrica; Barrett em 1956 faz uma conferência intitulada “*The oesophagus lined by columnar epithelium*” no International Congress of Gastroenterology, realizado em Londres, cujo *Syllabus* foi publicado no jornal *Gastroenterologia* ⁴⁵. No mesmo período foram publicados cerca de três dezenas de trabalhos, a maioria relatos de casos clínicos, referentes a úlcera péptica do esófago.

2.1.5. A revisão dos conceitos de Norman Barrett

Em 1957, Barrett ²⁹ publica o trabalho intitulado “*The lower esophagus lined by columnar epithelium*” no qual revê algumas das suas posições anteriores sobre esta entidade e propõe que ela se passe a designar por esófago revestido por epitélio colunar. Nomeadamente assume que *oesophagus* e *gullet* são sinónimos para o órgão tubular que se estende da faringe ao estômago e que a entidade que descreve é diferente da hérnia do hiato de deslizamento. Concorda com Allison ⁴⁰ no facto de o esófago revestido por epitélio colunar e a hérnia do hiato coexistirem frequentemente no mesmo doente. Reafirma a distinção, já explícita na publicação de 1950 ¹, entre ectopias/heterotopias e esófago revestido por epitélio colunar, assumindo que neste a distribuição é ascendente, contínua, a partir da junção esófago-gástrica numa extensão que pode variar desde alguns centímetros até ao esófago superior. Descreve a existência de 2 tipos de epitélio no esófago revestido por epitélio colunar; um, mais proximal, constituído por células colunares achatadas, organizadas em glândulas, no seio das quais existem células produtoras de muco, não existindo células oxínticas; outro, mais distal, semelhante à mucosa gástrica típica, com algumas células oxínticas dispersas. Descreve que a qualquer nível deste segmento anormal podem ocorrer ilhéus de epitélio pavimentoso. Reconhece as lesões que podem ocorrer associadas à entidade: esofagite de refluxo, estenoses e úlceras. Reconhece a ocorrência de adenocarcinomas nestes segmentos de esófago revestido por epitélio colunar.

Nos últimos anos alguns trabalhos têm sublinhado o facto do contributo dado por Barrett na caracterização desta entidade não justificar o epónimo que lhe foi atribuído ⁴⁶ ⁴⁷. O próprio Barrett reconhece na sua publicação de 1957 que “*as ideias aqui discutidas não são baseadas em estatísticas nem numa grande colecção de casos; elas são o resultado do pensamento sobre alguns casos não usuais de doença esofágica*”. Em relação a aspectos hoje tido como importantes, Barrett, por um lado, omitiu informação já disponível em pelo menos três publicações anteriores, da presença de epitélio com características intestinais (células caliciformes) no esófago recoberto por epitélio colunar. Por outro lado, favoreceu a hipótese, prevalente na altura, da origem congénita da entidade. Contudo, temos de reconhecer que Barrett, ao contrário do referido por alguns dos seus críticos ⁴⁷, equacionou a hipótese do carácter adquirido da entidade em relação com o refluxo, mas descartou-a face à evidência experimental disponível de que lesões induzidas experimentalmente no esófago de cão cicatrizavam por regeneração pavimentosa.

2.1.6. A revisão dos conceitos de Lortat-Jacob

No mesmo ano, Lortat-Jacob publicou um trabalho denominado “*L'endo-brachy-œsophage*” ²⁸ no qual descrevia uma entidade semelhante à descrita por Barrett. O autor afirmou ⁴⁸ ter escolhido esta designação por considerar ser a que melhor a descrevia, em oposição ao

braquiesófago ou esófago curto. Neste existia um esófago curto envolvendo todas as camadas do esófago enquanto no endobraquiesófago apenas a camada interna do órgão (a mucosa) estava envolvida. A entidade não podia ser identificada pelo aspecto exterior do esófago, porque de facto a sua topografia era a normal, tendo o estômago e uma porção do esófago uma posição sub-diafragmática ²⁸. Contudo, após a sua abertura, a mucosa tinha todas as características da mucosa gástrica numa determinada extensão da sua superfície, com a junção com o epitélio pavimentoso distante da junção esófago-gástrica. A observação histológica mostrava que as duas camadas musculares eram as do esófago e que a mucosa colunar era de tipo fúndico. Mais tarde, o autor afirmou ter preferido “a designação endobraquiesófago, por considerar a sua definição estritamente anatómica e que fazia a distinção com braquiesófago (este envolvendo todo o órgão e aquela apenas o revestimento interno)”. E que considerava importante “não fazer qualquer assumpção sobre a natureza da mucosa que recobre o esófago no segmento entre o epitélio pavimentoso e a mucosa do estômago, enquanto o conceito subjacente a esófago de Barrett previa apenas que ele fosse epitélio colunar” ⁴⁸.

2.1.7. O conhecimento da entidade no final dos anos 50

Assim, em 1957 a entidade que ficou conhecida pelo epónimo de esófago de Barrett, mas também descrita na literatura como endobraquiesófago, esófago curto congénito, esófago revestido por mucosa gástrica, esófago revestido por mucosa colunar, havia sido objecto de descrições que o caracterizavam em termos hoje ainda válidos. Em resumo, estabeleceu-se:

1. A presença de uma alteração, regra geral extensa, do revestimento epitelial do esófago distal, com a presença de um epitélio de tipo colunar.
2. A heterogeneidade desse epitélio, sendo descrito por diferentes autores a presença de epitélio tipo fúndico, tipo cárdico e com características intestinais (células caliciformes).
3. A ocorrência de adenocarcinoma nestes segmentos de esófago recobertos por epitélio colunar.

Os avanços feitos até ao final da década de 50 do século passado no conhecimento desta entidade têm de ser integrados nas condições concretas em que foram alcançados. Tratava-se de uma situação infrequente, senão rara - existem apenas mais dois artigos ^{43, 49}, que utilizaram o conceito de esófago recoberto por mucosa gástrica nos quatro anos que mediaram entre as publicações de Allison ⁴⁰ e de Barrett ²⁹ -, cujo acesso era, no essencial, possível apenas através de peças de autópsias e cirúrgicas e cujo principal meio de estudo in vivo era a radiologia, já que a esofagoscopia era ainda uma técnica rudimentar, difícil e só aplicada a doentes com situações graves, nomeadamente estenoses, para excluir lesões malignas. Por outro lado, o interesse na entidade era sobretudo de cirurgiões e tinha um

conteúdo muito operacional de opção terapêutica. Apenas seis anos após o consenso estabelecido em bases anatómicas e histológicas sobre a natureza do órgão em questão, Cohen e colaboradores⁵⁰ demonstraram num doente com uma estenose alta do esófago e com esófago revestido por epitélio colunar que havia um contínuo na motilidade dos segmentos revestidos pelos dois tipos de epitélio, que tinha as características motoras do corpo esofágico.

Nas duas décadas seguintes (1960-1980) houve três tópicos que dominaram, a investigação no âmbito desta entidade: a etiopatogénese, a relação com o adenocarcinoma do esófago e a caracterização histológica. Paralelamente, algumas questões já consensuais foram reforçadas por novos tipos de evidência.

2.2. Da natureza congénita ou adquirida

A evidência científica do carácter adquirido do esófago de Barrett foi um caminho árduo e longo. Como foi habitual na história desta patologia, muitas das evidências iniciais estabeleceram-se do relato de casos clínicos isolados ou de séries muito pequenas.

2.2.1. Da evidência clínica

Em 1960, Goldman e Beckman⁵¹ e, em 1966, Mossberg⁵² publicaram dois casos em que descreveram a observação do aparecimento de epitélio colunar no esófago em indivíduos com queixas de refluxo e esofagite. O primeiro relato, num homem de 66 anos com esofagite recorrente em quem os autores documentaram a ascensão de mucosa colunar no esófago ao longo de 6 anos. O segundo, descrevia um jovem adulto submetido a 3 esofagoscopias num período de 32 meses em que foi documentado, macroscópica e histologicamente, o aparecimento de epitélio colunar em áreas anteriormente documentadas como sendo recobertas por epitélio pavimentoso. Os autores de ambas as publicações consideraram que as suas observações suportavam uma natureza adquirida da lesão. Contudo, Mossberg⁵², atendendo ao facto de haver relatos da presença de células parietais em esófago revestido por epitélio colunar enquanto outros, onde se incluía, haviam observado a completa ausência daquele tipo de células, admitia que sob a designação de esófago de Barrett estivessem duas situações, uma adquirida e outra de natureza congénita. Complementando estas observações, o facto de haver descrições da ascensão de estenoses esofágicas ao nível da junção pavimento-colunar parecia suportar o conceito da natureza adquirida do esófago de Barrett.

Em 1963, Adler⁵³ publicou uma série de seis doentes na sétima década de vida com esófago revestido por epitélio colunar. Todos tinham hérnia do hiato, cinco apresentavam estenoses esofágicas e dois tinham úlceras de Barrett. Em quatro, foi estudada a secreção ácida gástrica

em jejum, que estava normal ou elevada. Com base nestes achados, Adler sugeriu que o revestimento colunar esofágico poderia ser uma resposta adaptativa ao ambiente esofágico anormal. Resulta da literatura, que Adler foi o primeiro autor a sugerir uma natureza metaplásica para a entidade. O autor enfatiza ainda o facto de todos os doentes terem hérnia e desta ser um factor responsável pela incompetência da região esófago-gástrica e pela esofagite. É de realçar, que a posição dos autores nesta altura sobre a hérnia do hiato de deslizamento se dividia entre um papel na etiopatogénese da esofagite de refluxo e uma consequência patológica dessa esofagite.

As dificuldades de entendimento da etiopatogénese desta patologia levou a que face a cada nova evidência decorrente das séries estudadas, os autores valorizassem quer a natureza congénita quer a natureza adquirida, ou tentassem conciliar ambas. Face ao achado de uma distribuição bimodal da idade (até aos dez e dos 48 aos 80 anos) na sua série de 45 casos identificados em 1000 doentes com hérnia do hiato, Borrie e Goldwater⁵⁴ propuseram uma etiologia dupla para o esófago revestido por epitélio colunar: congénita na infância, mas adquirida e semelhante à “intestinalização do estômago” nos adultos com hérnias do hiato de deslizamento.

Corrin e colaboradores⁵⁵ publicaram um caso diagnosticado num jovem de 23 anos, com uma estenose esofágica e um longo segmento de esófago recoberto por epitélio colunar. Na avaliação histológica descreveram a presença de epitélio tipo intestinal, imediatamente abaixo da estenose, de epitélio tipo cárdico e tipo fúndico. Os autores favoreceram a natureza congénita da entidade com base em duas características histológicas. Por um lado, a ausência completa de inflamação e de fibrose cicatricial sob o epitélio colunar, que consideram expectável numa lesão cuja génese residisse na inflamação. Por outro, a presença de epitélio cárdico e de pequenas áreas de mucosa de tipo fúndico. Para os autores, a estenose na junção dos epitélios pavimentoso e colunar só ocorre se existir refluxo ou devido à secreção de ácido pela mucosa tipo fúndica do esófago. Contudo à natureza congénita da lesão que defendem, acrescentam a hipótese da natureza metaplásica do epitélio intestinal, num processo semelhante ao observado no estômago, associado à gastrite, úlcera e cancro, e no cólon associado à colite ulcerosa.

2.2.2. Da evidência experimental

Mas se a partir das evidências de natureza clínica a opinião sobre a natureza adquirida da entidade ganhava consistência, a evidência experimental no modelo animal não a suportava. Já Norman Barrett, na sua publicação de 1957, descartava, o modelo que descreveu e que explicaria uma eventual natureza adquirida da lesão, por falta de evidência experimental.

Dois trabalhos publicados em 1963 por van de Kerckhof⁵⁶ e em 1968 por Henessy⁵⁷, utilizando

ambos o cão como modelo, mostraram que a regeneração/cicatrização de áreas em que a mucosa esofágica fora excisada se fazia com epitélio pavimentoso. Estas observações pareciam suportar a natureza congénita dos casos de esófago distal revestido por epitélio colunar.

Apenas em 1970, foi possível pela primeira vez desenvolver epitélio colunar no esófago em modelo experimental animal. Bremner e colaboradores ⁵⁸ utilizaram 35 cães, nos quais foi excisada uma secção circunferencial do epitélio do esófago distal. Os animais foram divididos em 3 grupos: no primeiro o esfíncter esofágico inferior foi destruído por miotomia e foi criada uma hérnia do hiato; o segundo foi submetido ao mesmo procedimento que o grupo anterior, tendo a secreção gástrica sido estimulada com a administração de histamina; no terceiro grupo foi feita apenas a excisão da mucosa pavimentosa, sem destruição do esfíncter ou criação de hérnia. Observou-se que neste último grupo a regeneração do defeito provocado na mucosa se fez com epitélio pavimentoso. Nos outros 2, a regeneração fez-se com epitélio pavimentoso e epitélio colunar, sendo este mais significativo no grupo no qual se estimulava a secreção ácida. Este estudo, na interpretação dos autores, veio demonstrar que: 1. quando a regeneração da mucosa esofágica se faz num meio ácido, ocorre com epitélio colunar; 2. Quanto mais ácido for o meio em que ocorrer a regeneração da mucosa, maior é a extensão de epitélio colunar. Para além destes aspectos tão relevantes para a compreensão da etiopatogénese desta entidade, os autores verificaram que o epitélio colunar que se desenvolveu tinha características de epitélio cárdico, sendo composto por células produtoras de muco e desprovido de células parietais.

2.2.3. O postulado de Hayard

Todos estes avanços na compreensão da etiopatogénese do esófago de Barrett se deram no contexto dos conceitos introduzidos por Hayard ⁵⁹ no início dos anos sessenta. Este cirurgião, de origem australiana, num trabalho sem qualquer referência a base casuística ou experimental, procurou responder a algumas questões que envolviam o entendimento da entidade, nomeadamente da localização da junção esófago-gástrica e do conceito de cárdia, a partir dos quais elaborou um paradigma que influenciou a compreensão e os conceitos sobre o esófago de Barrett nos 30-40 anos subsequentes.

Nesse trabalho, Hayward ⁵⁹ estabeleceu que a transição esófago-gástrica é facilmente identificável na observação externa dos órgãos que a delimitam, definindo as referências anatómicas que a balizariam: a reflexão peritoneal do estômago para o diafragma. Contudo a junção pavimento-colunar, entendida até aí como a junção do esófago com o estômago, não coincide com ela, localizando-se um a dois centímetros acima. A partir destas ideias base, estabeleceu que o esófago normal, ao contrário do que era universalmente aceite, não era exclusivamente revestido por epitélio pavimentoso. Uma curta extensão (um ou dois

centímetros) do esófago distal seria normalmente recoberta por epitélio colunar, cujas características (composto por glândulas revestidas por células mucosas sem células parietais) permitiriam defender o epitélio pavimentoso da digestão, inevitável, se ele estivesse em continuidade com a mucosa gástrica oxíntica, secretora de ácido e pepsina. Para esse epitélio, constituído por células produtoras de muco mas desprovido de células parietais, Hayward propôs a denominação de epitélio juncional (em oposição à denominação clássica de epitélio cárdico que o autor considerava desadequada). Afirmava ainda que este epitélio se prolongava numa pequena extensão para o estômago, pelo que seria um epitélio normalmente presente não só no esófago, mas também no estômago.

Para além da revolução que este conceito representava na definição até aí aceite de esófago e do seu revestimento, Hayward postulou que em consequência do refluxo do conteúdo gástrico para o esófago e da lesão por ele induzido no epitélio pavimentoso, a cicatrização se poderia fazer com a ascensão metaplásica do epitélio juncional determinando a ocorrência do esófago revestido por epitélio colunar. Com base no mecanismo fisiopatológico que propõe, Hayward classifica como errônea a denominação de esófago revestido por epitélio gástrico, na medida que este epitélio juncional era normal nos 2 centímetros distais do esófago. Assim, de acordo com o postulado por Hayward a presença de epitélio colunar no esófago passou a poder ser, simultaneamente, normal (nos 2 centímetros distais do esófago) e metaplásico (quando presente acima daquele nível). Estes pontos de vista vieram a influenciar a compreensão da entidade e, mais tarde e por um período largo, a serem incorporados na definição de esófago de Barrett, como veremos mais adiante ⁵⁹.

2.3. Da relação com o adenocarcinoma do esófago

Os factores determinantes da importância que esta entidade assumiu foram, por um lado, o reconhecimento da sua associação com o adenocarcinoma do esófago^{31, 40, 60-68} e, por outro, o aumento exponencial da incidência desta neoplasia nas últimas quatro décadas ^{15, 69-77}.

A evidência desta associação resultou principalmente do relato de casos clínicos e de pequenas séries hospitalares. Entre a publicação por Morson ³¹, daquele que é considerado o primeiro relato de um adenocarcinoma ocorrendo num esófago revestido por epitélio colunar, e a publicação da série de Haggitt ³², considerado como o trabalho que demonstrou definitivamente essa relação e estabeleceu inequivocamente a sequência metaplasia → displasia → adenocarcinoma, mediaram vinte e seis anos.

De acordo com Morson ³¹, o adenocarcinoma no esófago podia ocorrer em três situações. Pela progressão proximal das neoplasias gástricas, que classificava como não incomum. Raramente, pela transformação maligna das glândulas próprias do esófago normalmente presentes na sua submucosa. Ou a partir de mucosa gástrica ectópica, como ocorrera no caso

relatado. Em 1956, Smithers ⁶¹ considera existirem seis situações associadas com a presença de adenocarcinoma no esófago, mas defende que em apenas quatro as neoplasias se poderiam considerar verdadeiros adenocarcinomas do esófago: as que se desenvolviam em ilhas de mucosa gástrica ectópica ou nas glândulas submucosas, na mucosa esofágica que não tivesse sofrido a transformação pavimentosa durante o desenvolvimento fetal ou que tivesse sofrido metaplasia glandular em consequência de atrito ou de infecção prolongada.

O conceito do esófago revestido por epitélio colunar ser uma condição pré-maligna tem sido atribuído ⁴⁷ a Adler ⁵³. Em 1963 escrevia que “há uma evidência intrigante que sugere que o epitélio colunar no esófago distal pode condicionar risco para tumores, particularmente adenocarcinoma”. Neste contexto, os adenocarcinomas localizados junto da transição esófago-gástrica não podiam ser simplesmente considerados como tumores gástricos com crescimento proximal.

Raphael ⁶³ em 1966, na publicação da série da Mayo Clinic de adenocarcinomas primários do esófago, fez a revisão dos casos publicados até então e encontrou apenas dezoito, dos quais apenas seis tendo ocorrido indubitavelmente no contexto de esófago revestido por epitélio colunar. Na sua série de 10 casos ⁶³, de um total de 1312 neoplasias do esófago observadas na instituição de 1946 a 1963, apenas um correspondia a um caso com demonstração histológica de ter ocorrido em esófago revestido por epitélio colunar.

Um trabalho proveniente da mesma instituição, publicado por Hawe ⁶⁵ em 1973, relata cinco casos de adenocarcinoma ocorrendo em esófago de Barrett, tendo sido encontrado na literatura o relato de outros onze casos, incluindo o relatado por Raphael ⁶³.

Na revisão da literatura até 1975, Poleyndard ⁶⁶ encontrou 49 casos de adenocarcinoma ocorrendo em esófago revestido por epitélio colunar, aos quais acrescentou três. Verificou uma relação homem/mulher de 3:1, e que a idade média dos homens era inferior à das mulheres (53 versus 61 anos).

A exaustividade das revisões publicadas, nomeadamente as de Raphael ⁶³ e Hawe ⁶³, tem que ser olhada com alguma reserva. Por exemplo, nenhuma das séries inclui os 6 casos que Dodge ⁶² publicou em 1960 e que, a partir da evidência da análise macro e microscópica das peças, reclama corresponderem a casos de adenocarcinoma que se originaram em esófago revestido por epitélio colunar.

Em 1978 Haggitt e colaboradores ³² reviram uma série de 14 casos de adenocarcinoma primário do esófago, dos quais 12 (86%) com evidência de origem num esófago revestido por epitélio colunar. Dez deles tinham hérnia do hiato, clínica de doença do refluxo ou ambos. Em dez dos doentes foram observadas na proximidade ou à distância do tumor um espectro de alterações do epitélio colunar variando desde displasia ligeira a carcinoma *in situ*. Os autores concluíram que os dados que publicavam apoiavam o conceito do adenocarcinoma do esófago ser uma complicação do esófago revestido por epitélio colunar e sugeriam que a

neoplasia invasiva evolui na maioria dos casos através da sequência displasia epitelial - carcinoma. Com base nestes achados, os autores sugerem a possibilidade de a biopsia ou a citologia esofágica poderem detectar displasia e serem um método eficaz de monitorizar os doentes com esófago de Barrett.

Outro trabalho considerado como crucial no estabelecimento da associação do esófago de Barrett com o adenocarcinoma do esófago, foi publicado por Skinner e colaboradores ⁷⁸ em 1984. Nele, os autores comparam dois grupos de doentes com esófago de Barrett sem (n=23) e com (n=20) adenocarcinoma associado. Os autores não verificaram uma diferença estatisticamente significativa nas distribuições por sexo, raça, tipos de epitélio dos segmentos revestidos por epitélio colunar e sintomas entre os dois grupos. Em relação à idade, os doentes com adenocarcinoma eram mais velhos, mas a diferença também não atingia significado estatístico.

2.3.1. Do risco de adenocarcinoma e da necessidade de vigilância

Estabelecida a relação do esófago de Barrett com o adenocarcinoma do esófago, e com a informação disponível da alta incidência deste, rapidamente foi advogada a necessidade de vigilância endoscópica ^{79, 80}. Publicações do início dos anos sessenta reportavam incidências de adenocarcinoma no esófago curto que atingiam os 24% ⁸¹. Séries posteriores utilizando já os conceitos de esófago revestido por epitélio colunar ou esófago de Barrett reportavam incidências mais baixas, mas ainda próximo dos 10%, como por exemplo a de Naef ⁸², publicada em 1975 que descrevia 12 casos de adenocarcinoma (8,5%) em 140 doentes com esófago de Barrett. Na revisão que publicou em 1983, Sjorgen ⁸⁰ estimou que o risco de desenvolver adenocarcinoma no esófago de Barrett era de cerca de 10%. A elevada frequência de adenocarcinoma associado ao esófago de Barrett reportada nestas séries era condicionada pela inclusão sob a mesma denominação de casos prevalentes e incidentes. Com efeito numa série cujo objectivo era a análise de doentes com “hérnia do hiato sintomática” avaliados para eventual tratamento cirúrgico, que incluía 45 doentes com esófago de Barrett sem adenocarcinoma na avaliação inicial, nenhum desenvolveu cancro durante um período de até 22 anos de vigilância ⁵⁴.

As duas primeiras séries que procuraram avaliar, ainda que de forma retrospectiva, a incidência do adenocarcinoma no esófago de Barrett (e portanto excluíram os casos em que ambos os diagnósticos coincidiram no tempo) foram publicadas por Cameron ⁸³ sob a forma de *abstract* em 1983 (a publicação em texto ocorreu em 1985 ⁸⁴) e por Spechler ¹⁴ em 1984. No primeiro, realizado sob a forma de inquérito postal, foram observados 2 casos de adenocarcinoma num grupo de 122 doentes com um período médio de vigilância de 8,5 anos, a que correspondia uma incidência de 1/441 doentes/ano de vigilância (0,2%). Spechler avaliou um grupo de 105 doentes com uma vigilância média de 3,3 anos, no qual 2

desenvolveram adenocarcinomas, o que correspondia a uma incidência de 1/175 doentes/ano de vigilância (0,6%). Estes dois trabalhos, embora mostrassem diferenças na ordem das três vezes nas incidências encontradas, vieram demonstrar que o elevadíssimo risco de cancro até aí considerado derivava de erros metodológicos, nomeadamente da inclusão de casos prevalentes (que nas séries de Cameron e de Spechler eram, respectivamente, 18 e 8) e incidentes.

A magnitude do risco de progressão neoplásica no esófago de Barrett é uma questão que nos últimos 30 anos foi amplamente debatida a partir dos resultados de múltiplas séries de doentes, numa perspectiva eminentemente de custo-efectividade da vigilância endoscópica destes doentes. Voltaremos a esta questão mais adiante.

2.3.2. Da incidência do adenocarcinoma do esófago

Paralelamente ao reconhecimento da associação do esófago de Barrett com o adenocarcinoma do esófago, verificou-se que este passou de uma raridade relativa, que justificava nas décadas de 50 a 70 a publicação de casos clínicos³¹ ou de séries relativamente pequenas⁶³, para a neoplasia maligna cuja incidência mais aumentou nas últimas quatro décadas nos países industrializados do ocidente⁸⁵. Datam de meados dos anos oitenta as primeiras referências a este aumento da incidência. Dados dos Estados Unidos mostram que o adenocarcinoma do esófago aumentou sete vezes entre 1973 e 2006 (de uma incidência de 3,6 para 25,6 casos por milhão de habitantes)⁸⁶. Apesar deste aumento dramático, o adenocarcinoma do esófago continua a ser pouco frequente quando comparado com outras neoplasias digestivas e não digestivas. Em 2011 estima-se que tenham sido diagnosticados nos Estados Unidos 16980 casos de cancro do esófago, no conjunto dos carcinomas pavimento-celulares e dos adenocarcinomas. Existem, no entanto, dados consistentes que apontam para um decréscimo na taxa anual de crescimento da incidência do adenocarcinoma do esófago, que passou de 8,3% em 1996 para 1,3% em 2006⁷⁵.

No que concerne à Europa, o aumento da incidência tem também sido observada, mas de forma não uniforme. Assim a análise do período de 1968 a 1995, tendo por base onze registos oncológicos de 10 países, evidenciou esse aumento em regiões da Europa do Norte (Dinamarca), da Europa do Sul (Itália), Europa do Leste (Eslováquia) e na Europa Ocidental (País de Gales e Escócia). Paralelamente, tal aumento não foi documentado em regiões da Suíça, Islândia, França, Irlanda do Sul e Holanda¹⁵. No entanto, um estudo recente que comparou as alterações na incidência nos Estados Unidos, Holanda e Espanha concluiu que em 1980 ela era semelhante nos três países, mas que a taxa de aumento anual verificado foi diferente nos três países (7,4%, 9,7% e 4,3%, respectivamente)⁸⁷. Curiosamente, este padrão não foi verificado em três factores de risco associados com o adenocarcinoma do esófago - tabaco, obesidade e álcool.

Existe também evidência epidemiológica que o início do aumento da incidência do adenocarcinoma do esófago foi temporalmente muito distinto, por vezes mesmo em países vizinhos, estimando-se que esse tempo possa ter variado até 30 anos ⁸⁸. Do mesmo modo verifica-se existirem variações regionais significativas na incidência do adenocarcinoma do esófago, nomeadamente nos Estados Unidos ⁸⁹.

2.4. Do conceito operacional de esófago de Barrett

Estabelecida a relação entre o esófago revestido por epitélio colunar e o adenocarcinoma do esófago, importava estabelecer consensos sobre a definição operacional da entidade, de modo a ser possível comparar resultados da investigação provenientes de diferentes centros. Convém recordar aqui, que a partir do início dos anos sessenta passou a ser aceite que uma curta extensão do esófago distal (até 2 cm) era normalmente revestido por epitélio colunar ⁵⁹. Neste contexto, houve autores que propuseram que a definição operacional da entidade deveria incluir um mínimo de extensão de epitélio colunar no esófago distal para que o diagnóstico de esófago de Barrett pudesse ser feito. Skinner ⁷⁸ utilizou a regra da existência de pelo menos 3 centímetros de mucosa colunar acima da transição esófago-gástrica para classificar os doentes como tendo esófago de Barrett. A partir dos primeiros anos da década de oitenta, tornou-se regra a definição duma extensão mínima de epitélio colunar para o estabelecimento do diagnóstico de esófago de Barrett. Embora a extensão de 3 centímetros proposta por Skinner fosse a mais adoptada, encontram-se na literatura referências a extensões entre os 2 e 5 centímetros ⁹⁰⁻⁹².

A evolução deste conceito “quantitativo” de esófago de Barrett (em que a extensão era essencial) para um conceito “qualitativo” em que o diagnóstico se baseia numa correlação endoscópico-histológica, assentou, no essencial, em 3 factos.

2.4.1. O espectro histológico do esófago de Barrett

Na literatura encontravam-se descrições de diferentes epitélios no esófago revestido por epitélio colunar. Em 1976 Paul e colaboradores ³⁰ efectuaram, sob controlo manométrico e após identificação do esfíncter esofágico inferior, biopsias seriadas em onze doentes com segmentos de esófago revestido por epitélio colunar a intervalos de 1 a 3 centímetros. Foi observada a presença de três tipos de epitélios colunares distintos. Um caracterizado pela presença de células parietais e principais que denominaram de tipo gástrico atrófico fúndico (n=5); um caracterizado pela presença de células mucosas, sem células parietais ou principias, a que chamaram de tipo juncional (n=4); um caracterizado pela presença de células caliciformes, que denominaram de epitélio colunar especializado (n=9). O trabalho de

Paull e colaboradores ³⁰ veio demonstrar que: a) o epitélio colunar especializado era o mais prevalente no esófago revestido por epitélio colunar; b) os três epitélios tinham uma distribuição topográfica reprodutível, tendo o epitélio colunar especializado localização mais proximal e o tipo gástrico atrófico fúndico mais distal; c) ao contrário do evidenciado até então, no esófago revestido por epitélio colunar estavam presentes células parietais, que se limitavam ao epitélio tipo gástrico atrófico fúndico, que tinha sistematicamente um aspecto semelhante ao epitélio gástrico fúndico com alguma atrofia. De acordo com o conhecimento da época, dos 3 epitélios presentes no esófago de Barrett apenas o colunar especializado não pertencia ao espectro normalmente observado ao nível do estômago proximal.

Subsequente à descrição de Paull ³⁰ da heterogeneidade epitelial do esófago de Barrett, Haggitt ³² sugeriu uma relação entre o epitélio colunar especializado, que mais não é que uma forma de metaplasia intestinal, e o adenocarcinoma do esófago. Essa relação veio posteriormente a ser confirmada por Skinner ⁷⁸ e por Reid ¹⁰, tendo sido produzida evidência que apenas o epitélio colunar especializado estava associado ao risco de progressão neoplásica no esófago de Barrett.

2.4.2. Do conceito quantitativo ao conceito qualitativo

Assim, no final da década de 70 e início da década de 80 estava estabelecido que o esófago revestido por epitélio colunar (na altura já definitivamente associado ao epónimo esófago de Barrett) era uma lesão adquirida com uma extensão variável, associada ao refluxo gastro-esofágico, constituída por uma mucosa com marcada heterogeneidade epitelial e com uma associação estabelecida com o adenocarcinoma do esófago. Tendo-se constatado a especificidade do epitélio colunar especializado como marcador do processo metaplásico que está na origem do esófago de Barrett e demonstrado a sua associação com a progressão neoplásica e o desenvolvimento de displasia e adenocarcinoma, observou-se uma natural transformação no conceito operacional de esófago Barrett. Processo lento, na medida em que permaneceu a necessidade da observação de determinada extensão de epitélio colunar, que variou entre 2 e mais de 5 centímetros, para que o diagnóstico do esófago de Barrett pudesse ser estabelecido ^{90, 91}.

O critério da extensão do segmento de esófago revestido por epitélio colunar para o diagnóstico do esófago de Barrett veio a ser definitivamente posto em causa pelo trabalho de Stuart Spechler e colaboradores publicado em 1994 ⁹³. Nesse trabalho, os autores realizaram sistematicamente biopsias imediatamente abaixo da linha Z em 156 doentes sucessivos submetidos a endoscopia alta. Em 12, o diagnóstico de esófago de Barrett (>3cm de esófago revestido por epitélio colunar e presença de epitélio colunar especializado) era já anteriormente conhecido. Nos restantes 142, observaram a presença de esófago de Barrett em 2 doentes e a presença de epitélio colunar especializado na ausência de critérios

endoscópicos de esófago de Barrett em 26 (18%). Os resultados do trabalho de Spechler ⁹³ foram decisivos para a adopção de um novo conceito de esófago de Barrett, que passou a ser definido como a presença de qualquer extensão de epitélio colunar especializado (metaplasia intestinal) no esófago tubular. A célula caliciforme, o marcador histológico da metaplasia intestinal, passou a ser, no contexto de um quadro macroscópico (endoscópico) adequado, simultaneamente o marcador de diagnóstico e de risco do esófago de Barrett ⁹⁴.

2.5. Questões actuais

Provavelmente a questão actual central em torno do esófago de Barrett será a identificação do subgrupo de doentes em risco de progressão neoplásica, através de marcadores clínicos, histológicos ou moleculares discriminativos. Contudo, existe ainda hoje controvérsia sobre questões básicas no manejo destes doentes, nomeadamente sobre a sua definição, o risco de cancro que lhe está associado e o poder discriminativo do único marcador de risco até hoje validado na prática clínica, a displasia.

2.5.1. Do conceito de esófago de Barrett

Os critérios de diagnóstico de esófago de Barrett mantêm diferenças significativas nos diferentes *guidelines* publicados nos últimos anos. Diferenças na questão do critério endoscópico para a definição da junção esófago-gástrica e na questão dos critérios histológicos que balizam o diagnóstico.

Os *guidelines* mais citados são os da American Gastroenterology Association (AGA) ⁹⁵, do American College of Gastroenterology (ACG) ² e da British Society of Gastroenterology (BSG) ⁴, cujas versões mais recentes são, respectivamente, de 2011, 2008 e 2014.

Para a AGA a definição de esófago de Barrett inclui a condição em que qualquer extensão de epitélio colunar metaplástico que predispõe para o desenvolvimento de cancro substitui o epitélio pavimentoso estratificado que normalmente recobre o esófago distal ^{3, 95}. Para a definição deste conceito, parte de dois pressupostos: 1. Não existem critérios universalmente aceites para a definição da junção/transição esófago-gástrica; 2. Não existe modo de verificar/demonstrar que os epitélios de tipo gástrico (cárdico e atrófico-fúndico) encontrados no esófago distal sejam metaplásticos, pois podem ser morfologicamente indistinguíveis dos epitélios colunares encontrados no estômago. Como a presença de epitélio de tipo intestinal é claramente anormal no esófago e predispõe para cancro ¹⁰, estes *guidelines* definem que a presença deste epitélio numa biopsia realizada acima da transição esófago-gástrica é diagnóstica de esófago de Barrett. Estabelecem também que a junção

esófago-gástrica é definida pelo limite proximal das pregas gástricas, a partir da sua utilização generalizada nos países ocidentais após a proposta feita em 1987 por McClave ⁹⁰. Os *guidelines* actuais da AGA não apresentam diferenças significativas dos conceitos publicados pela mesma organização em 2004 ⁹⁶ nos quais era estabelecido que a metaplasia intestinal no esófago documentada por histologia era um pré-requisito para o diagnóstico do esófago de Barrett e que a definição operacional do esófago de Barrett era o deslocamento proximal da junção pavimento-colunar em relação à junção esófago-gástrica com a presença de metaplasia intestinal.

O ACG publicou *guidelines* sobre o esófago de Barrett em 1998 ⁹⁷, 2002 ⁹⁸ e 2008 ². Na última versão ² ele é definido como uma alteração no epitélio do esófago distal de qualquer extensão que pode ser reconhecida como mucosa de tipo colunar durante a endoscopia e que se confirma ter metaplasia intestinal em biopsias do esófago tubular. O enunciado da definição mais recente apenas difere do publicado em 2002 ⁹⁸ no facto de este explicitamente excluir a metaplasia intestinal do cárdia do conceito de esófago de Barrett. Os *guidelines* do ACG não estabelecem nenhum conceito para a definição operacional da junção esófago-gástrica, embora determinem a utilização sistemática da classificação de Praga ⁹⁹, que considera que ela se localiza no limite proximal das pregas gástricas.

Recentemente, foram publicados os *guidelines* australianos para o diagnóstico e manejo do esófago de Barrett que adoptou os critérios das sociedades americanas ⁵.

A BSG elaborou as suas “*Guidelines for the diagnosis and management of Barrett’s columnar lined oesophagus. A report of the working party of the British Society of Gastroenterology*” em 2005 ¹⁰⁰ e publicou recentemente uma revisão e actualização ⁴. Na versão inicial, o esófago de Barrett (que os autores consideravam ser melhor designado por esófago revestido por epitélio colunar) era definido como um esófago no qual qualquer extensão do revestimento pavimentoso normal foi substituída por um epitélio colunar metaplásico macroscopicamente visível; para o diagnóstico de esófago de Barrett poder ser feito, um segmento de metaplasia colunar de qualquer extensão deve ser visível endoscopicamente acima da junção esófago-gástrica e ser confirmado ou corroborado histologicamente. Playford considerou que esta formulação simultaneamente eliminava a necessidade de uma extensão mínima de epitélio colunar metaplásico e impunha que esse segmento fosse observável na endoscopia ¹⁰¹. A junção esófago-gástrica era definida pela confluência do limite proximal das pregas gástricas longitudinais, do limite distal dos vasos lineares do esófago e do ponto de transição do esófago tubular para o estômago sacular.

A versão de 2014 dos *guidelines* da BSG ⁴ define o esófago de Barrett como um esófago em que qualquer extensão do revestimento pavimentoso normal distal foi substituído por epitélio colunar metaplásico, que é claramente visível endoscopicamente (≥ 1 cm) acima da junção esófago-gástrica e é confirmado histologicamente. Assim, o diagnóstico do esófago de Barrett carece apenas da demonstração da presença de qualquer tipo de epitélio colunar, quer seja

gástrico (cárdico/fúndico) ou intestinal. No entanto, realçam a particular atenção para excluir a hipótese de biopsias do cárdia ou de uma hérnia do hiato quando somente mucosa fúndica/oxíntica é observada, pois a metaplasia fúndica pura é um achado raro no esófago de Barrett. Por outro lado, estes *guidelines* reintroduzem novamente um componente quantitativo no conceito da entidade, ao definirem como segmento endoscopicamente visível aquele que tem uma extensão igual ou superior a 1 cm.

A oriente, nomeadamente no Japão, os critérios para o diagnóstico desta condição apresentam diferenças substanciais em relação ao ocidente ¹⁰². Porque balizam a junção esófago-gástrica com outras referências anatómicas e porque admitem o diagnóstico de esófago recoberto por epitélio colunar/esófago de Barrett numa base exclusivamente endoscópica ou histológica. Assim, a junção esófago-gástrica é definida como o limite distal dos vasos em paliçada, que correspondem histologicamente, em cortes transversais do esófago distal, a veias excedendo 100 µm de diâmetro observadas na lâmina própria do esfíncter esofágico inferior. Quando estas veias em paliçada são observadas na endoscopia através de uma mucosa colunar, o diagnóstico de esófago de Barrett pode ser feito apenas pelo aspecto endoscópico e não carece de confirmação histológica ¹⁰². Os autores japoneses admitem ainda o diagnóstico numa base puramente endoscópica quando ilhéus de epitélio pavimentoso são observados no seio de mucosa colunar ¹⁰³. Admitem, por outro lado, que o diagnóstico numa base exclusivamente histológica possa ser feito quando as glândulas próprias do esófago e os seus ductos excretorios são evidentes em biopsias de mucosa colunar⁷.

Tabela 1 - Diferenças nos critérios de diagnóstico do esófago de Barrett

Sociedade	Junção esófago-gástrica	Critério endoscópico	Critério histológico	
AGA ³	Limite proximal pregas gástricas	+	+	MI
ACG ²	Limite proximal pregas gástricas	+	+	MI
ACPG ⁵	Limite proximal pregas gástricas	+	+	MI
BSG ⁴	Limite proximal pregas gástricas	+	+	MI, C/F
SFED ⁶	Limite proximal pregas gástricas	+	+	MI
	Limite distal dos vasos em paliçada			
JES ¹⁰²	Limite distal dos vasos em paliçada	±	±	Vários *

AGA - American Gastroenterology Association ACG - American College of Gastroenterology

ACPG - Australian Clinical Practice *Guidelines* BSG - British Society of Gastroenterology

SFED - Société Française d'Endoscopie Digestive

JES - Japanese Esophageal Society

MI - Metaplasia intestinal C/F - Epitélios tipo cárdico/fúndico

* Glândulas próprias do esófago e ductos excretorios

Um consenso recentemente publicado ¹⁰⁴ define o esófago de Barrett pela presença de mucosa colunar no esófago e estabelece que deve ser referido se existe metaplasia intestinal acima da junção esófago-gástrica. Estabelece também que irregularidades da junção esófago-gástrica ou digitações de mucosa colunar ≤ 1 cm podem ser aspectos normais e que o diagnóstico deve assentar numa base clínico-patológica.

2.5.2. Da necessidade da documentação de metaplasia intestinal

A evidência científica utilizada na fundamentação da necessidade ou não da presença de metaplasia intestinal no esófago revestido por epitélio colunar, para o diagnóstico de esófago de Barrett, é de vária ordem e nenhuma confere aos seus defensores a verdade absoluta. É universalmente aceite que a relevância do esófago de Barrett é determinada por ser uma condição pré-maligna e pelo risco de cancro que lhe está associado. Argumentam os defensores da necessidade da demonstração de metaplasia intestinal com a evidência de que dos três tipos de epitélio que constituem o espectro histológico do esófago de Barrett, apenas o epitélio de tipo intestinal é claramente anormal nesta região anatómica, já que os epitélios de tipo cárdico e de tipo fúndico encontrados no esófago de Barrett serão virtualmente indistinguíveis dos epitélios colunares encontrados no estômago ⁴⁶. Por outro lado a maior parte dos estudos que documentaram a associação do esófago de Barrett com o adenocarcinoma do esófago e que avaliaram o risco de progressão foram efectuados maioritariamente ou exclusivamente em doentes em que existia evidência da presença de metaplasia intestinal nos segmentos metaplásicos ^{20, 105-109}. Os defensores desta posição utilizam ainda outros três argumentos. Primeiro, a não existência de estudos conclusivos que avaliem a magnitude do risco de progressão neoplásica no esófago revestido por epitélio colunar em que apenas foi evidenciada a presença de epitélio de tipo cárdico/fúndico, e o facto dos que estão disponíveis mostrarem resultados contraditórios ^{11, 110, 111}. Segundo, que a probabilidade de se evidenciar epitélio de tipo intestinal se correlaciona com a extensão do segmento metaplásico ^{112, 113} e que a questão do diagnóstico com base apenas na presença de epitélio de tipo gástrico (cárdico) se põe, na generalidade dos casos, para segmentos menores que 3 centímetros, que são os mais prevalentes ¹¹⁴. Sabe-se que a probabilidade de se identificar metaplasia intestinal em segmentos de esófago revestido por epitélio colunar com uma extensão até um centímetro é muito baixa ^{113, 115}. De acordo com Chandrasoma essa probabilidade aumenta para 75% em segmentos de 1-2 cm e para 90% em segmentos de 3-4 centímetros ¹¹³. Contudo Westerhoff apenas evidenciou a presença de células caliciformes em 19% dos doentes com uma extensão menor que 2 centímetros. O mesmo trabalho demonstrou que utilizando os critérios do American College of Gastroenterology, apenas 37% de um coorte de 690 indivíduos com esófago revestido por epitélio colunar seriam classificados como tendo esófago de Barrett, enquanto se fossem aplicados os critérios da British Society of Gastroenterology, tal aconteceria a 92% do coorte, o que representaria um aumento da

população em vigilância em 147% ¹¹⁴. Terceiro, que a probabilidade de se evidenciar metaplasia intestinal no esófago revestido por epitélio colunar se correlaciona com o número de biopsias efectuadas, sendo de cerca de 69% se forem colhidas oito e de cerca de 35% se apenas forem colhidas quatro ¹¹⁶, e que a sua não documentação pode depender de uma amostragem insuficiente. Argumentam também com a repercussão que o diagnóstico de esófago de Barrett tem no acesso e nos custos com a saúde nos Estados Unidos.

Curiosamente, este último argumento é também utilizado nos *guidelines* da BSG. Podendo traduzir uma questão de amostragem, excluir do diagnóstico e da vigilância doentes nestas condições poderá significar estar a excluir doentes em risco ⁴. Gatenby mostrou que nos doentes sem evidência de metaplasia intestinal na endoscopia índice, e como tal passíveis de exclusão da vigilância de acordo com os *guidelines* americanos, ela foi evidenciada em 54,8% ao fim de cinco anos e em 90,8% ao fim de dez ¹¹¹.

Para além deste facto, existem 2 trabalhos cujos resultados mostram que o risco de progressão para displasia e cancro não é diferente em coortes com e sem metaplasia intestinal na endoscopia índice ^{110, 111}. De realçar que em ambos os coortes, a prevalência de metaplasia intestinal na endoscopia índice ultrapassava os 50%. Contudo, um estudo mais recente de base populacional com mais de 8000 doentes, mostrou que o risco de progressão neoplásica (displasia de alto grau ou adenocarcinoma) era significativamente mais elevado nos doentes com metaplasia intestinal (0,38% versus 0,07%) ¹¹.

Recentemente, alguns estudos de base histopatológica têm questionado a relação maioritariamente aceite da relação entre o risco de cancro e a presença de metaplasia intestinal ¹¹⁷⁻¹¹⁹. Esses estudos demonstraram que a mucosa circundante a adenocarcinomas superficiais ressecados endoscopicamente era, na maioria dos casos, de tipo cárdico, sendo num número elevado de casos exclusivamente desse tipo. Recentemente, esta nova evidência tem levado alguns autores tradicionalmente defensores da necessidade da demonstração de metaplasia intestinal a repensarem essa posição ^{120, 121}.

2.5.3. Da natureza e significado do epitélio de tipo cárdico

O espectro histológico da metaplasia colunar do esófago inclui, de acordo com Paul e colaboradores ³⁰, três epitélios distintos: atrófico fúndico, juncional e colunar especializado.

Posteriormente, Chandrasoma e colaboradores ^{113, 122} confirmaram a existência de três tipos de epitélio com localização distinta ao longo dos segmentos metaplásicos e propuseram uma nova denominação para eles: 1) cárdico, constituído por glândulas revestidas apenas por células colunares mucosas; 2) oxíntico-cárdico, composto por glândulas com uma mistura de células parietais e mucosas; 3) metaplasia intestinal, caracterizado pela presença de células caliciformes no seio da mucosa de tipo cárdico. De notar que Chandrasoma ¹²³ considera o

epitélio oxíntico-cárdico histologicamente distinto quer do epitélio de tipo oxíntico (constituído por glândulas tubulares revestidas por células parietais e principais), quer da mucosa oxíntica com atrofia onde existe uma perda total ou parcial de células parietais. Considera ainda que os epitélios de tipo oxíntico-cárdico e intestinal no revestimento colunar do esófago resultam da diferenciação do epitélio de tipo cárdico, com o desenvolvimento de células parietais ou caliciformes, consoante ocorra em ambiente com um pH mais ou menos ácido.

Sendo aceite, sem controvérsia, que a presença de epitélio de tipo cárdico no esófago é anormal e resultante de um processo metaplásico, a sua presença enquanto epitélio normal ao nível do estômago, nomeadamente ao nível daquilo que se convencionou chamar de cárdia, foi e é motivo de intensa controvérsia.

Hayard⁵⁹ postulou em 1960 a sua presença habitual entre a mucosa pavimentosa do esófago e a mucosa oxíntica do estômago, como uma zona tampão cuja função seria proteger aquela da digestão pelo ácido produzida por esta.

Este postulado foi posto em causa por um conjunto de trabalhos de base endoscópica ou de autópsias que estudaram a junção esófago-gástrica. No início da década passada, Chandrasoma e colaboradores¹²⁴, num estudo retrospectivo, apenas observaram a presença de epitélio tipo cárdico em 2 de 11 crianças e jovens menores de 19 anos. Na mesma publicação, reportaram o estudo prospectivo de 7 crianças cuja junção esófago-gástrica foi totalmente processada e em que apenas objectivaram a presença deste tipo de epitélio em quatro. A partir da prevalência, extensão, distribuição e do efeito da idade nessas variáveis concluíram pela natureza adquirida do epitélio tipo cárdico¹²⁴. Park e colaboradores¹²⁵ não encontraram qualquer foco de epitélio de tipo cárdico em 78% de 23 autópsias fetais, o que favorecia a sua natureza adquirida.

Numa população adulta de 36 indivíduos, submetidos a esofagectomia por carcinoma pavimento-celular do esófago, Sarbia e colaboradores¹²⁶ identificaram epitélio cárdico em todos excepto num. A ausência num indivíduo e a sua distribuição não circular em 15 tem sido usado como argumento favorecendo a hipótese da sua natureza adquirida.

Pelo contrário, Kilgore e colaboradores¹²⁷, num estudo de necrópsias numa população pediátrica sem evidência de refluxo, demonstraram a presença de epitélio tipo cárdico na junção esófago-gástrica de todos os indivíduos e concluíram pela natureza nativa deste tipo de epitélio nesta localização. Derdoy encontrou a mesma prevalência de epitélio cárdico na totalidade de cem indivíduos com idades compreendidas entre 1 dia e 18 anos¹²⁸. Zhou e colaboradores¹²⁹, num trabalho em que identificaram glândulas revestidas por células mucosas e parietais em 5% e 55% de fetos e em 48% e 45% de crianças entre as 40 semanas e os 17 anos, concluíram também pela natureza congénita deste epitélio.

Os estudos de base endoscópica ^{113, 130, 131} também não têm contribuído para o esclarecimento da controvérsia em torno da natureza do epitélio cárdico ao nível da junção esófago-gástrica. Contudo, um estudo em crianças até aos 18 anos ¹³⁰ e outro em adultos ¹³¹ demonstraram a presença de epitélio cárdico em biopsias realizadas abaixo da junção esófago-gástrica (limite proximal das pregas gástricas) em, respectivamente, 81% e 62% dos indivíduos e não tendo sido evidenciado epitélio de tipo oxíntico em nenhum.

Odze ¹³² numa revisão recente afirma que existe extensa evidência histológica e imunohistoquímica que suporta ser a presença de epitélio colunar (cárdico ou intestinal) acima da junção esófago-gástrica de natureza metaplásica e relacionada com o refluxo gastro-esofágico, mas reconhece que uma percentagem muito significativa de doentes submetidos a endoscopia tem um pequeno segmento, milimétrico, de mucosa de tipo colunar no esófago. Ao contrário de Chandrasoma ¹²³, considera também que o “verdadeiro cárdia gástrico”, que corresponde anatomicamente a uma curta extensão de estômago até 4 mm abaixo da junção esófago-gástrica revestida por epitélio de tipo cárdico, é uma estrutura normal na anatomia do estômago ¹³². Considera ainda existir evidência que a sua extensão aumenta com a idade e com manifestações clínicas e histológicas de refluxo ¹³⁰.

Foi demonstrado que o epitélio de tipo cárdico, a metaplasia intestinal da junção esófago-gástrica e o esófago de Barrett partilham características imunofenotípicas, já que têm um padrão similar na expressão das citoqueratinas 7 e 20, diferente do observado na mucosa normal do esófago e do estômago (fúndica e antral) ^{133, 134}. O mesmo padrão foi observado no epitélio cárdico que se desenvolveu no esófago remanescente após esofagectomia ¹³⁵.

Em trabalho anterior, o nosso grupo demonstrou a expressão quase universal de vilina, que é um marcador críptico de diferenciação intestinal, no epitélio de tipo cárdico presente no esófago de Barrett e no esófago revestido por epitélio colunar sem metaplasia intestinal ¹³⁶.

2.5.4. Do risco de cancro no esófago de Barrett

As metodologias da avaliação do risco de progressão neoplásica no esófago de Barrett variaram ao longo do tempo quer no *end-point* (adenocarcinoma versus displasia de alto grau/adenocarcinoma), nos critérios de inclusão (exclusão ou não dos casos com displasia no exame índice), na distinção entre casos prevalentes e incidentes (exclusão ou não dos casos diagnosticados no primeiro ano de vigilância), nas populações estudadas (coortes em vigilância endoscópica versus estudos de base populacional), e esse facto reflecte-se na heterogeneidade dos resultados.

A primeira meta-análise de avaliação do risco de cancro no esófago de Barrett foi publicada por Shaheen ¹⁰⁵ em 2000 e mostrou três factos relevantes: 1. a existência de viés de publicação nos trabalhos publicados no intervalo de tempo em análise (1966-1988); 2. uma

relação inversa entre o risco calculado e a dimensão da população estudada; 3. Um risco estimado de cerca de 0,5%/ano ou de 1/200 doentes/ano de vigilância (muito inferior ao 1% até aí considerado). Após a meta-análise inicial de Shaheen foram publicadas mais cinco ^{20, 106-109}. Os aspectos mais relevantes das meta-análises publicadas encontram-se resumidos na Tabela 2.

Apesar das diferenças no número de estudos, doentes incluídos e nos tempos de vigilância, as primeiras cinco encontraram um risco de progressão para adenocarcinoma semelhante, variando entre 5 e 7 casos por 1000 doentes/ano de vigilância. Apenas na meta-análise publicada mais recentemente por Desai e colaboradores ¹⁰⁹ o risco calculado foi inferior, de 3,3 casos por 1000 doentes/ano. O autor atribui este risco inferior à selecção mais criteriosa das publicações e à exclusão dos casos prevalentes de adenocarcinoma (os que ocorreram no primeiro ano de vigilância), dos casos com displasia (indefinido, baixo e alto grau) na endoscopia índex e publicações redundantes.

Tabela 2 - Meta-análises do risco de ADC em doentes com esófago de Barrett

Autor	Ano	Período	n	Sem MI	Número doentes	Doente/anos vigilância	Risco ADC *	IC95%
Shaheen ¹⁰⁵	2000	1966-1998	25	Sim	2590	12017	5	NE
Thomas ¹⁰⁶	2007	1966-2004	41	Sim	9469	36635	7	6 - 9
Yousef ¹⁰⁷	2008	1950-2006	47	Sim	11276	47496	6,1	4,7 - 7,9
Wani ¹⁰⁸	2009	1966-2008	53	Sim	6847	31070	5,98	5,05 - 6,91
Sikkema ²⁰	2010	1966-2008	51	Sim	14109	61804	6,3	4,7 - 8,4
Desai ¹⁰⁹	2011	1966-2011	57	Não	11434	58547	3,3	2,8 - 3,8

n - Número de estudos incluídos ADC - Adenocarcinoma MI - Metaplasia Intestinal DAG - Displasia de Alto Grau IC95% - Intervalo de confiança NE - Não especificado

* Casos por 1000 doentes/anos de vigilância

Apenas duas das meta-análises ^{108, 109} limitaram a inclusão a doentes com documentação histológica da presença de metaplasia intestinal no esófago. Em outras duas, os autores ou compararam o risco nos doentes com e sem metaplasia intestinal e não encontraram diferenças ¹⁰⁵, ou calcularam o risco para os doentes sem metaplasia intestinal e encontraram um risco inferior (5,0 versus 6,3 casos por 1000 doentes/ano) ao calculado para todos os doentes incluídos na meta-análise ²⁰.

Seria antecipável que a inclusão nas meta-análises de estudos que incluíssem doentes com displasia na endoscopia índex pudesse aumentar o risco de cancro observado. Contudo, Sikkema ^{20, 137} encontrou um risco idêntico quando considerou todos os estudos incluídos na sua meta-análise ou após a exclusão de dez em que os casos com displasia de alto grau na endoscopia índex ou os casos de adenocarcinomas prevalentes não podiam ser identificados.

Na única meta-análise em que foi analisado o risco em função dos países de origem dos

estudos ¹⁰⁷ (Reino Unido, Estados Unidos da América, Europa Continental e Austrália), ele foi semelhante (variou entre 5,6 e 6,5 casos por 1000 doentes/ano).

A análise do risco de progressão neoplásica no esófago de Barrett tendo como *end-point* o adenocarcinoma, corre o risco de introduzir um viés significativo com repercussão no risco calculado, subestimando-o. Existem trabalhos que mostram que o diagnóstico de displasia de alto grau em biopsias se associava numa percentagem elevada de casos ao diagnóstico de neoplasia invasiva (adenocarcinoma) na peça operatória ¹³⁸⁻¹⁴⁰. Neste contexto, a terapêutica cirúrgica (esofagectomia) e, mais recentemente, as terapêuticas ablativas endoscópicas eram a abordagem preferencial na maioria dos centros face ao diagnóstico de displasia de alto grau ⁹⁸. A intervenção terapêutica, ao impedir a progressão para adenocarcinoma, levava a que muitos casos de progressão neoplásica não fossem considerados no cálculo do risco.

Em duas das meta-análises publicadas foi calculado o risco de progressão neoplásica tendo como *end point* o adenocarcinoma ou a displasia de alto grau ^{20, 107}. Em ambas, que incluíram um número de estudos, de doentes e tempos de vigilância semelhantes, o risco de progressão para displasia de alto grau/adenocarcinoma foi cerca 60% superior ao risco calculado de progressão para adenocarcinoma. Os resultados mais relevantes encontram-se resumidos na Tabela 3.

Tabela 3 - Meta-análises do risco de DAG/ADC em doentes com esófago de Barrett

Autor	Ano	Período	Número estudos	Número doentes	Doente/anos vigilância	Risco ADC/DAG *	IC95%
Yousef ¹⁰⁷	2012	1966-1998	20	4491	22609	10	7,1 - 14,2
Sikkema ²⁰	2010	1966-2004	26	4528	22559	10,2	7,5 - 14

ADC - Adenocarcinoma DAG - Displasia de Alto Grau IC95% - Intervalo de confiança

* Casos por 1000 doentes/anos de vigilância

As seis meta-análises publicadas entre 2000 e 2011 incluíram um total de 122 publicações. O número de publicações incluídas em cada uma variou entre 25 e 57, o que demonstra uma grande heterogeneidade nos critérios de inclusão com reflexo no resultados e na dificuldade de comparação entre eles. Na última meta-análise publicada, os autores tiveram uma preocupação extrema com dois aspectos que haviam criticado nas anteriormente publicadas ¹³⁷: a exclusão das publicações redundantes (em que os resultados da mesma série foram sendo actualizados) e das publicações que incluíram casos com displasia no exame índice ou em que não foram eliminados os casos de adenocarcinomas prevalentes. Em carta de resposta a esta crítica, Sikkema ¹³⁷ argumenta que se fossem eliminados os trabalhos em questão mas mantendo os que incluíam casos com displasia de baixo grau no exame inicial, o impacto no risco calculado não era relevante. A incidência de adenocarcinoma diminuiria de 6,3 para 5,6 casos por 1000 doentes/ano e a de displasia de alto grau/adenocarcinoma de 10.2 para 9,5.

Desde 2011, ano da publicação da última meta-análise, foram publicados cinco trabalhos sobre o risco de progressão neoplásica no esófago de Barrett, cujos resultados se encontram resumidos no Tabela 4.

Tabela 4 - Estudos do risco de ADC/DAG em doentes com esófago de Barrett (publicados após última meta-análise)

Autor	Ano	n	Doentes/ano	ADC *	ADC/DAG *	IC95%
Picardo ¹⁴¹	2015	1033	3542	2,3	8,5	-
Shakhatreh ¹⁴²	2014	29536	144949	1,75	4,79	4,44 - 5,16
Cooper ¹⁴³	2014	3749	17743	3	-	-
Rugge ¹⁴⁴	2013	777	2837	2,5	5,3	-
Hvid-Jensen ¹²	2011	11028	67105	1,2	2,6	2,6 - 3,1

ADC - Adenocarcinoma DAG - Displasia de Alto Grau IC95% - Intervalo de confiança

* Casos por 1000 doentes/ano vigilância

No trabalho de Hvid-Jensen ¹², que incluiu doentes com o diagnóstico de esófago de Barrett identificados na base de registo nacional dinamarquesa de Anatomia Patológica (sendo o critério o diagnóstico de metaplasia intestinal em biopsias referenciadas como efectuadas no esófago) e identificou os casos de adenocarcinoma do esófago a partir do respectivo registo oncológico, o risco de adenocarcinoma e displasia de alto grau foram muito baixos (1,2 e 1,9 por 1000 doentes/ano de vigilância, respectivamente).

Tradicionalmente, os coortes dos estudos de incidência de cancro no esófago de Barrett utilizavam as datas da endoscopia índice e da última realizada como limites para definição do tempo de vigilância ¹⁴⁴⁻¹⁴⁷. Mais recentemente, estudos de base populacional (Tabela 5) utilizaram conceitos diferentes para definir esses limites ^{11, 12, 21, 142}. A inclusão no coorte coincide sempre com o momento do diagnóstico (data da endoscopia nalguns, data do registo do diagnóstico histológico noutros) e o fim da vigilância com um de três momentos: data do diagnóstico do evento definido (adenocarcinoma ou adenocarcinoma e displasia de alto grau), data da morte do indivíduo ou a data pré-definida para o final do estudo). Alguns estudos de coorte também utilizaram esta metodologia para o cálculo do tempo de vigilância ¹⁴⁸.

Tabela 5 - Risco de ADC e ADC/DAG em doentes com esófago de Barrett (coortes de base populacional)

Autor	Ano	N	Doentes/ano	ADC *	ADC/DAG *
Shakhatreh ¹⁴²	2014	29536	144949	1,75	4,79
Hvid-Jensen ¹²	2011	11028	67105	1,2	2,6
Bhat ¹¹	2011	4307	28323	2,3	3,8
Schouten ²¹	2011	493	2958	3,0	NR

ADC - Adenocarcinoma DAG - Displasia de Alto Grau IC95% - Intervalo de confiança

* Casos por 1000 doentes/ano vigilância

A maioria dos estudos de base populacional utiliza como critério de inclusão o diagnóstico histológico de epitélio de tipo colunar com metaplasia intestinal em biopsias referenciadas como efectuadas no esófago. Este tipo de estudos pode estar associado a vezes que conduzam à subavaliação do risco de cancro. A ausência de correlação endoscópico-histológica coloca o problema da quantificação do número de doentes incluídos com

metaplasia intestinal em junções esófago-gástricas normais/irregulares, incorrectamente classificados com esófagos de Barrett, cujo risco de cancro é significativamente inferior ¹⁴⁹. Por outro lado, não é possível saber o número de doentes submetidos a terapêuticas de ablação por displasia, o que pode enviesar o número de cancros observados ¹⁴⁹. Para além disso, a maioria dos estudos tem como *end-point* o diagnóstico de adenocarcinoma, não avaliando a incidência de displasia de alto grau ¹⁴⁹. Foi também descrita uma tendência para este tipo de estudos incluir um elevado número de segmentos curtos, cujo risco é reconhecidamente inferior aos dos segmentos longos ¹⁵⁰.

Existe também evidência que a magnitude do risco se associa de forma inversa à dimensão da população estudada e ao número de anos de vigilância ¹⁵¹.

Em resumo, embora a questão do risco de adenocarcinoma (e de displasia de alto grau) continue em aberto já que as diferentes metodologias utilizadas nos estudos estão associadas a potenciais vieses, os estudos mais recentes indicam que o risco é significativamente mais baixo que os 0,5% aceites desde o princípio do milénio ¹⁰⁵, e que provavelmente rondará os 0,3% por ano ¹⁵⁰.

Na última meta-análise publicada ¹⁰⁹, os autores identificaram 57 trabalhos que cumpriam os critérios de inclusão (esófago revestido por epitélio colunar e metaplasia intestinal na histologia, negativo para displasia na endoscopia índex, mais de um ano de vigilância, casos de adenocarcinoma no primeiro ano classificados como prevalentes e excluídos da análise). Como atrás referido, houve posteriormente mais cinco publicações. Na Tabela 6 agrupámos os 62 trabalhos por intervalos de publicações e pudemos verificar que nos intervalos considerados (1984-1999, 2000-2004, 2005-2009 e 2009-2014) o número de doentes incluídos e o número de anos de vigilância aumentaram de forma quase exponencial, enquanto os tempos médios de vigilância correspondentes a esse período apenas tiveram um ligeiro incremento (4,0 para 5,4 anos nos intervalos limites do espaço temporal considerado).

Tabela 6 - Número de publicações, número de doentes incluídos, tempos de vigilância total e médio para os quatro intervalos de tempo considerado (período 1984-2014)

Período	Publicações	Doentes (n)	Doentes-anos	Anos de vigilância (média)
1984-1999	15	707	2770	4,0
2000-2004	20	2884	14407	4,9
2005-2009	17	5511	28380	5,2
2010-2014	10	56105	305710	5,4

2.5.5. Do significado do diagnóstico de displasia

A progressão para adenocarcinoma no esófago de Barrett ocorre numa sequência metaplasia intestinal → displasia → adenocarcinoma ¹⁵². A displasia é definida como a presença de

epitélio neoplásico confinado à membrana basal da glândula em que se origina ¹⁵³. A displasia é o único factor de risco de progressão para adenocarcinoma clinicamente validado ^{154, 155}, sendo graduada em negativo, indefinido, baixo grau e alto grau ¹⁵⁶. Dado o elevado risco de progressão da displasia de alto grau para adenocarcinoma (entre 6% e 19% ao ano) ⁹⁵, é hoje consensual e integra todos os *guidelines* que o seu diagnóstico, confirmado por dois patologistas independentes, é indicação para intervenção terapêutica ^{2, 4-6, 95}.

Dado o facto de a mucosa do esófago de Barrett ser de natureza metaplásica, Goldblum ¹⁵⁷ afirma que existe sempre uma “atipia de base” que deve ser tida em consideração quando se faz o diagnóstico de displasia, sendo que aquela atipia é mais pronunciada nas glândulas da base da mucosa e não atinge a superfície. Para além disso, a mucosa do esófago de Barrett está muito frequentemente inflamada, com presença de infiltrado inflamatório agudo e/ou crónico. A lesão epitelial reactiva ao processo inflamatório pode produzir alterações citoarquitecturais degenerativas/regenerativas cujo diagnóstico diferencial com displasia pode ser difícil.

É conhecida a baixa reprodutibilidade inter-observador e intra-observador no diagnóstico e graduação da displasia ¹⁵⁷. Contudo, quando se trata dos extremos do espectro da displasia (negativo e alto grau) a reprodutibilidade é satisfatória ou boa, o que não ocorre nos graus intermédios (baixo grau e indefinido) em que ela é fraca ou pobre ^{156, 158}, mesmo entre patologistas com interesse especial em patologia gastrointestinal ¹⁵⁸.

2.5.6. Do significado do diagnóstico de displasia de baixo grau

O risco de progressão para adenocarcinoma do esófago de Barrett com displasia de baixo grau é mal conhecido. Mesmo se forem apenas tidos em consideração estudos que incluem um grande número de doentes as taxas de incidência anuais variam entre 0,2% ¹⁵⁹ e mais de 3% ¹⁶⁰. Num estudo que incluiu 283 doentes com o diagnóstico de displasia de baixo grau feito na rotina por patologistas da comunidade, verificou-se que ele se associava a um risco de progressão (displasia de alto grau ou adenocarcinoma) três vezes superior ao do esófago de Barrett não displásico, mas que na maioria dos doentes a displasia não era detectada em exames subsequentes ¹⁶¹.

Nos últimos cinco anos foram publicados resultados referentes a nove coortes ^{11, 12, 21, 141, 162-166} de doentes com esófago de Barrett com displasia de baixo grau. O risco de progressão para adenocarcinoma variou entre 2,4 e 33,3 casos por 1000 doentes/ano de vigilância e o risco cumulativo de progressão para adenocarcinoma/displasia de alto grau variou entre 7,3 e 133 casos por 1000 doentes/ano de vigilância (Tabela 7). Da análise da tabela ressalta a existência de dois trabalhos em que o risco se destaca dos restantes ^{162, 165}. Ambos, com coortes de dimensões distintas, são provenientes do mesmo grupo e utilizam a mesma

metodologia, em que os casos de esófago de Barrett com displasia de baixo grau foram revistos por patologistas com grande experiência e reclassificados. Verificou-se que, nos casos em que a opinião do segundo patologista coincidiu com o diagnóstico inicial, o risco de adenocarcinoma e displasia de alto grau foi elevado quando comparado com o risco observado nos doentes nos quais o diagnóstico de displasia de baixo grau foi revisto para indefinido ou negativo. No trabalho de Curvers ¹⁶² o risco de adenocarcinoma/displasia de alto grau foi de 134 por 1000 pessoas/ano nos doentes em que o diagnóstico de displasia de baixo grau foi confirmado e apenas de 4,9 nos doentes em que o diagnóstico foi revisto. Duits ¹⁶⁵ utilizou a mesma metodologia numa coorte de 293 doentes com displasia de baixo grau; nos 79 nos quais o diagnóstico foi confirmado o risco de adenocarcinoma/displasia de alto grau foi de 91 por 1000/doentes ano, enquanto nos doentes em que a displasia foi reclassificada para indefinido ou negativo o risco foi de 9 e 6 por 1000 doentes/ano, respectivamente.

Tabela 7 - Incidência de Adenocarcinoma e Adenocarcinoma/Displasia de Alto Grau no esófago de Barrett com Displasia de Baixo Grau

Autor	Ano	Número doentes	Incidência ADC *	Incidência ADC/DAG *
Gattenby ¹⁶¹	2009	283	27	46
Curvers ¹⁶²	2010	19	33,3	133
Hvid-jensen ¹²	2011	621	5,5	-
Bhat ¹¹	2011	323	9,2	13,1
Wani ¹⁶³	2011	210	6,3	25
Schouten ²¹	2011	97	4,1	-
Jung ¹⁶⁴	2011	34	2,4	7,3
Duits	2014	79	-	91
Thota ¹⁶⁶	2014	222	8	31
Picardo ¹⁴¹	2015	52	11,8	31,4

ADC - Adenocarcinoma DAG - Displasia de Alto Grau

* Casos por 1000 doentes/ano vigilância

Em contradição com estes resultados, Wani e colaboradores ¹⁶³ publicaram em 2011 um trabalho em que concluíram que o risco de progressão do esófago de Barrett com displasia de baixo grau para adenocarcinoma ou displasia de alto grau era baixo (1,83% ao ano), semelhante ao do esófago de Barrett negativo para displasia, que não havia factores preditivos da progressão e que a variabilidade inter-observador era significativa, mesmo entre patologistas diferenciados nesta entidade.

Existem duas meta-análises publicadas sobre o risco de cancro neste contexto ^{108, 167}. Na primeira, publicada por Wani ¹⁰⁸ em 2009 que incluiu 16 publicações e 1273 doentes com displasia de baixo grau não sujeitos a terapêuticas de ablação, o risco calculado foi de 17 por 1000 doentes/ano (IC95% 13-21). Na segunda, publicada por Singh em 2014 ¹⁶⁷, que incluiu 24 publicações num total de 2694 doentes, a incidência de adenocarcinoma foi 5,4 por 1000 doentes/ano (IC95% 3,2-7,6) e a incidência cumulativa de adenocarcinoma ou displasia de alto grau foi, nas 16 publicações que a analisaram, de 17,3 por 1000 doentes/ano (9,9 a

24,7). Nesta meta-análise os autores verificaram ainda que os trabalhos que tinham uma elevada relação de doentes com displasia de baixo em relação ao coorte total (>0,15%) tinham uma incidência significativamente menor de adenocarcinoma (3,2 e 7,6 casos por 1000 doentes/ano) do que aqueles em que aquela relação era baixo (<15%).

Da evidência publicada nos últimos anos em relação ao significado do diagnóstico de displasia de baixo grau no esófago de Barrett pode concluir-se que é pouco reprodutível, pouco sensível e específico para a definição do risco quando feito por patologistas generalistas mas que se associa a um risco muito elevado de progressão para displasia de alto grau/adenocarcinoma, se confirmado por um patologista diferenciado na entidade. Existe evidência, embora não consensual, que o sexo ¹⁶⁶, a extensão da displasia ¹⁶⁶, o seu carácter prevalente ou incidente e o diagnóstico histológico por consenso ^{162, 165} se associam com o risco de progressão, o que não é confirmada por outros trabalhos ¹⁶³.

2.5.7. Do significado do diagnóstico de indefinido para displasia

O significado do diagnóstico de indefinido para displasia em termos de risco de progressão neoplásica é menos conhecido. Estes casos são muitas vezes analisados quer agrupados com os negativos para displasia, quer com a displasia de baixo grau, tornando difícil o entendimento do seu significado.

Existem quatro publicações que analisaram o risco de progressão em doentes com o diagnóstico de indefinido para displasia ^{166, 168-170}, cujos resultados se resumem na Quadro 8. Um dos trabalhos ¹⁶⁸ não utiliza o método de doentes/ano, pelo que a sua comparação com as restantes é difícil. O risco de progressão para adenocarcinoma/displasia de alto grau variou entre 12 e 14 casos por 1000/doentes ano, enquanto o risco de adenocarcinoma, apenas analisado em dois trabalhos ^{166, 169}, variou entre zero e 8. Kesten e colaboradores ¹⁶⁹ concluem, a partir da maior série publicada, que o risco de progressão para displasia de alto grau ou adenocarcinoma em doentes com esófago de Barrett indefinido para displasia parece ser semelhante ao da displasia de baixo grau, pelo que a vigilância endoscópica é mandatária, devendo ser prestada uma maior atenção aos doentes mais idosos onde o risco parece ser mais elevado. O mesmo trabalho demonstra que a regressão para negativo para displasia, a manutenção de indefinido para displasia e a progressão para displasia de baixo grau se associam a riscos diferentes e progressivamente mais elevados de progressão para adenocarcinoma/displasia de alto grau (4,3, 11 e 34 casos por 1000 doentes/ano). Thota e colaboradores ¹⁶⁶ identificaram como factores de risco de progressão o género masculino, a presença de nódulos e a multifocalidade da displasia.

Tabela 8 - Incidência de Adenocarcinoma e Adenocarcinoma/Displasia de Alto Grau no esófago de Barrett Indefinido para Displasia

Autor	Ano	Número doentes	Incidência ADC *	Incidência ADC/DAG *
Younes ¹⁶⁸	2011	55	-	3,6% **
Kestens ¹⁶⁹	2014	842	12	20
Totha ¹⁶⁶	2014	77	0	12
Hovarth ¹⁷⁰	2015	82	-	12

ADC - Adenocarcinoma DAG - Displasia de Alto Grau IC95% - Intervalo de confiança

* Casos por 1000 doentes/ano vigilância ** Percentagem dos doentes do coorte

3. Problema de Investigação

A informação que existe sobre o esófago de Barrett em Portugal - prevalência, incidência, risco de progressão neoplásica, factores a ela associados - é muito escassa. Para além da publicação de Silva ⁴¹, existe uma publicação do nosso grupo no final dos anos 90 abordando a questão do risco de cancro ¹⁷¹, com um número de doentes e tempo de vigilância escassos, com muitos dos vieses frequentes nestas análises e já referidos anteriormente. Para além destas, existem também algumas publicações de casos clínicos, séries de casos ¹⁷² e sob a forma de resumo.

A informação sobre o adenocarcinoma do esófago no nosso país também é escassa. Apenas dispomos de dados oficiais sobre a incidência e mortalidade do cancro do esófago (no conjunto do carcinoma pavimento-celular e do adenocarcinoma) a nível nacional e por áreas dos três registos oncológicos. Os últimos dados disponíveis do Registo Oncológico do Sul dizem respeito a 2008 e 2009, área geográfica da nossa Instituição. Assim, no ano de 2009, a taxa padronizada de incidência do cancro do esófago na área do Registo Oncológico do Sul foi de 4,5/100.000, correspondente a 262 novos casos ²⁵. Cerca de 25% do total de cancros do esófago correspondem a adenocarcinoma (informação pessoal).

Os estudos de incidência e prevalência numa população são complexos e difíceis de implementar, sobretudo quando não existem registos sistemáticos da sua ocorrência. No que respeita ao esófago de Barrett, nalguns países têm sido implementado registos regionais e nacionais ¹⁷³, cujo contributo para o seu conhecimento tem sido relevante e ajudado à definição de protocolos de vigilância.

Sabe-se também que existem variações geográficas significativas na incidência do adenocarcinoma do esófago e também, embora menos marcadas, no risco de cancro associado ao esófago de Barrett. O risco de progressão no esófago de Barrett em países de baixa incidência de adenocarcinoma do esófago ainda é mais mal conhecido, não permitindo saber se a baixa incidência daquele se associa a uma baixa prevalência do esófago de Barrett ou a um baixo risco de progressão.

O problema de investigação a que esta Tese pretende responder é o do risco de progressão neoplásica (displasia de alto grau e adenocarcinoma) associado ao Esófago de Barrett na população portuguesa com esófago de Barrett e quais os factores associados a essa progressão.

4. Objectivos

O objectivo principal da presente Tese é:

- Determinar a incidência de adenocarcinoma e de displasia de alto grau numa população de doentes portugueses com esófago de Barrett.

Os objectivos secundários são:

- Identificar variáveis demográficas e clínicas associadas à progressão neoplásica no esófago de Barrett.
- Avaliar o risco de progressão para adenocarcinoma e displasia de alto grau associado ao diagnóstico de displasia de baixo grau e indefinido para displasia.
- Avaliar o significado dos segmentos de esófago revestidos por epitélio colunar sem evidência de metaplasia intestinal, nomeadamente características clínicas, evolução e risco de progressão neoplásica.

5. Materiais e métodos

A presente Tese inclui 5 trabalhos que pretendem responder à questão de investigação e aos objectivos definidos. Assim, o trabalho 1 tem como objectivo determinar o risco de adenocarcinoma e de displasia de alto grau no esófago de Barrett e os factores a ele associado; o trabalho 2 tem como objectivo avaliar a concordância intra e inter-observador no diagnóstico da displasia de baixo grau e de indefinido para displasia e o impacto dessa concordância no risco de progressão para displasia de alto grau e adenocarcinoma; os trabalhos 3, 4 e 5 visam contribuir para a compreensão do significado e risco dos segmentos de esófago revestidos por epitélio colunar sem metaplasia intestinal e para o conhecimento do significado biológico do epitélio tipo cárdico, o epitélio mais prevalente neste contexto.

Os materiais e os métodos utilizados em cada um dos cinco trabalhos que integram esta Tese são descritos exhaustivamente em cada um deles.

Em termos gerais, os trabalhos 1, 2, 3 e 4 têm como base o Programa de Vigilância de Esófago de Barrett, criado em 1995 pelos Serviços de Gastreenterologia, Anatomia Patológica e Cirurgia do Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, que constituíram o Grupo de Estudos do Esófago de Barrett. Este Programa, integrado no objectivo geral do Grupo de aprofundar a investigação clínica, básica e translacional nesta área, visava a inclusão prospectiva dos doentes referenciados à Instituição com o diagnóstico de esófago de Barrett e a sua vigilância de acordo com os *guidelines* publicados. Na inclusão foram sempre utilizados os critérios do American College of Gastroenterology, assentando o diagnóstico numa correlação endoscópica (presença de epitélio vermelho, aveludado, de tipo gástrico acima da transição esófago-gástrica, definida como o limite proximal das pregas gástricas) e histológica (evidência de metaplasia intestinal definida pela presença de células caliciformes). Para a vigilância endoscópica foi utilizado o protocolo de Seattle (biopsias dirigidas de todas as lesões macroscópicas e aleatórias dos 4 quadrantes a 2 cm de intervalo) excepto na utilização de pinças de biopsias de alto volume, sendo sistematicamente utilizadas pinças convencionais. Os intervalos de vigilância foram os propostos pelo American College of Gastroenterology, tendo-se adaptado o nosso Programa às actualizações que foram sofrendo. O *endpoint* do Programa era o diagnóstico de adenocarcinoma ou displasia de alto grau, que determinava uma intervenção terapêutica (esofagectomia no período inicial do Programa e esofagectomia ou ressecção e/ou ablação endoscópica no período mais recente), após confirmação do diagnóstico por um segundo patologista independente nos casos de displasia de alto grau ou displasia de alto grau/adenocarcinoma intra-mucoso.

O trabalho 5 resultou de uma colaboração entre o Grupo de Estudos do Esófago de Barrett e o Serviço de Pediatria do Hospital de Santa Maria na avaliação histológica e clínica de doentes de idade pediátrica com doença do refluxo.

O Programa de Vigilância do esófago de Barrett foi aprovado pelos órgãos de gestão do Instituto Português de Oncologia de Lisboa e todos os trabalhos que integram esta Tese tiveram aprovação pela Comissão de Ética da instituição. A inclusão no Programa de Vigilância foi precedida de consentimento por parte dos doentes e todos os procedimentos endoscópicos, diagnósticos ou terapêuticos, realizados no seu âmbito foram objecto de consentimento informado, por escrito desde a sua introdução na instituição.

A vigilância endoscópica era realizada até há alguns anos até ao momento em que se considerava a idade e/ou comorbilidades dos doentes como contra-indicação para a realização de esofagectomia no caso de progressão neoplásica. Com a introdução das técnicas de ressecção/ablação da mucosa no Serviço, os critérios para excluir os doentes da vigilância tiveram em conta a opção por estas modalidades terapêuticas.

6. Artigos publicados e submetidos

Incluem-se neste capítulo os 5 trabalhos realizados no âmbito desta tese:

Low risk of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in patients with non-dysplastic Barrett's esophagus: results from a cohort from a low esophageal adenocarcinoma incidence country

Aceite para publicação

United European Gastroenterol J

Dysplasia in Barrett's esophagus: intraobserver and interobserver concordance in diagnosis and classification

Submetido para publicação

Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years

Aliment Pharmacol Ther 2012; 36: 282-289

Long segments of columnar-lined lower esophagus are not always metaplastic

Rev Esp Enferm Dig 2015; 107:444-448

Characteristics of cardiac epithelium at the esophagogastric junction of a pediatric population with gastroesophageal reflux

Diseases of the Esophagus 2014; 27: 709-714

6.1. Low risk of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in patients with non-dysplastic Barrett's esophagus: results from a cohort from a low esophageal adenocarcinoma incidence country

Low risk of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in patients with non-dysplastic Barrett's esophagus: results from a cohort from a low esophageal adenocarcinoma incidence country

Antonio Dias Pereira ^{1,3}, Paula Chaves ^{2,3}

Affiliations

1. Department of Gastroenterology, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE
2. Department of Pathology, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE
3. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior

Corresponding author:

António Dias Pereira

Gastroenterology Department

Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE

Rua Professor Lima Basto

1099-023 Lisboa

Portugal

Phone: +3519702352

E-mail: adiaspereira1@gmail.com

Abstract

Introduction

The risk of esophageal adenocarcinoma (EAC) in non-dysplastic Barrett's esophagus (NDBE) is considered to be approximately 0.3% per year, or even lower according to population-based studies. Data from countries with low EAC incidence are scarce.

Aims

Our principal aim was to determine the incidence of high-grade dysplasia (HGD)/EAC in NDBE. Our secondary aims were to identify predictors of progression and to calculate HGD/EAC incidence by using the calculation method for surveillance time in population-based studies.

Materials and Methods

A cohort of NDBE patients was prospectively followed up. Cases of HGD and EAC (study end points) diagnosed during the first year of follow-up were considered as prevalent. Only cases with endoscopic surveillance time > 1 year were included in the analysis.

Results

We enrolled 331 patients (251 men) in the surveillance program. Their median age was 59 years (interquartile range [IQR], 47-67 years). The median BE length was 3 cm (IQR, 2-4 cm). Of the patients, 80 died during follow-up, one of whom from EAC; and two were lost to follow-up. After 2284 patient-years of follow-up (median surveillance time, 5 years [IQR, 2-10 years]), five cases of HGD and two cases of EAC were diagnosed. The incidence of HGD or EAC was 3.1 cases per 1000 patient-years (95% confident interval [95% CI], 1.3-6.0) and that of EAC was 0.9 (95% CI, 0.2-2.9). The sole variable associated to progression was BE length. If total surveillance time was considered (total, 3537 patient-years), the incidence of HGD and ADC was only slight lower.

Conclusion

The incidence of HGD and EAC was very low in NDBE. Therefore, current surveillance guidelines must be reassessed, at least for short-segment BE.

Introduction

Barrett's esophagus (BE) results from the metaplastic replacement of the normal squamous lining of the distal esophagus by a columnar epithelium. BE is associated with gastroesophageal reflux and is the only known precursor of esophageal adenocarcinoma (EAC), whose incidence in Western countries has been increasing faster than that of any other solid tumor. The risk of neoplastic progression has been linked to the presence of intestinal metaplasia (IM), which is frequently but not universally found in columnar-lined esophagus.

The estimated cancer risk in BE has decreased significantly in the last 20 years. Its incidence until the year 2000 was estimated to be approximately 1% per year, with reports ranging from 0 to 2%^{1,2}. In 2000, Shaheen et al³ showed a risk overestimation due to publication bias, and a 0.5% risk was proposed. Recently, population-based studies that showed a lower risk of cancer in BE were published^{4,5}, reporting cancer incidence rates as low as 0.12% per year⁵.

Since 2007, five meta-analyses⁶⁻¹⁰ have been published, showing EAC incidence rates in BE ranging from 0.33% to 0.7%. Although incidences were calculated excluding incident cases of high-grade dysplasia (HGD) or EAC, only the meta-analysis by Desai et al¹⁰ excluded patients with any grade of dysplasia at enrollment. When only the ten studies with the highest quality (no evidence of selection bias, more than 5 years of mean follow-up, and at least 1 year of minimum follow-up) were considered, the observed incidence was similar. When only patients with short-segment BE (SSBE) were considered, cancer risk decreased to 0.19%.

Most of the studies on BE cancer risk are from the United States, Northern Europe, and British Islands, where the incidence of EAC is high. The risk of EAC in Southern Europe, where EAC is less prevalent, is not well known, and all studies, except one from Italy¹¹, included only a small number of patients.

Endoscopic and population-based studies use different methodologies in surveillance time calculation. In endoscopic studies, it is calculated from the index (enrollment into the cohort) to the last performed upper gastrointestinal (GI) endoscopy¹². In population-based studies, it is calculated as the time elapsed from BE diagnosis to HGD or EAC diagnosis, death, or the end of the study period, whichever came first^{4,5,13}. Furthermore, BE diagnosis in most population-based studies is based on histological findings (presence of IM in biopsy samples previously registered as performed in the esophagus), which can overestimate the number of subjects at risk¹⁴. However, the impact of these different study methodologies on the magnitude of the calculated cancer risk has not been evaluated.

Thus, the principal aim of the present study was to calculate the risks of EAC, HGD, and HGD/EAC in a cohort of Portuguese patients with non-dysplastic Barrett's esophagus (NDBE) prospectively enrolled in a surveillance program. Our secondary aims were as follows: 1) to identify predictors of progression of BE to HGD and EAC and 2) to calculate the incidence of

EAC, HGD, and HGD/EAC in this cohort by using the calculation method for surveillance time in population-based studies.

Patients and methods

This BE surveillance program started in 1995 and was approved by the Instituto Português de Oncologia de Lisboa Institutional Review Board. All of the patients provided informed consent for inclusion in the program and written consent to undergo endoscopy. The inclusion criteria were as follows: the presence of columnar-lined esophagus ≥ 1 cm in length and the presence of IM in biopsy samples (from at least one endoscopy). If IM was not detected in the first upper GI endoscopy, a second endoscopy was performed 1 year later. If still no IM was observed, the patient was discharged from surveillance. Biopsies were performed according to the Seattle protocol, with four-quadrant random biopsy samples obtained every 2 cm and biopsy samples obtained from any visible lesion within Barrett's segment by using standard biopsy forceps. All of the biopsy samples were submitted in separate bottles to the pathology laboratory. In 1998, the surveillance protocol was established according to the guidelines of the American College of Gastroenterology. It involves performing an endoscopy 1 year after the initial endoscopy and every 3 years thereafter in patients who test negative for dysplasia. If indefinite or low-grade dysplasia were diagnosed, patients were given intensive proton pump inhibitors (PPIs) and endoscopy was repeated at 3- to 6-month intervals until dysplasia had regressed or stabilized. If EAC or HGD was diagnosed and confirmed by another independent pathologist, the patients were referred for surgical or endoscopic resection.

The patients routinely received PPIs for control of reflux symptoms and esophagitis. Anti-reflux surgical procedures were discussed with all of the patients and performed when medical therapy failed to control the symptoms or esophagitis.

The following information regarding the patients with BE was recorded: demographic characteristics (age at diagnosis, sex, and ethnicity), endoscopic data (date of the procedure; length of BE in centimeters; classification into short [≤ 3 cm] and long segments [>3 cm]), and according to the original Prague classification system for BE¹⁵; and presence of hiatal hernia), and histological diagnosis (including the presence or absence of IM; dysplasia grade, namely negative, indefinite, low grade, or high grade; and the presence of EAC). Use of PPI, anti-reflux surgery, and histories of smoking and alcohol consumption were also recorded.

For the purposes of this study, only patients with BE of a minimum length of 1 cm, 1 year of surveillance, and at least one surveillance endoscopy were considered. Index endoscopy was defined as the first endoscopy performed, independently if it was performed before or after the start of the surveillance program, in our institution and yields results that meet the diagnostic criteria for BE. In patients previously diagnosed with BE in other institution, the first endoscopy performed in the context of the surveillance program was considered as the index.

For the purposes of this study, surveillance was considered as the time (in years) elapsed from the index endoscopy to the last endoscopy performed with biopsies. If a patient returned with a diagnosis of EAC or HGD after being discharged from endoscopic surveillance (due to age, severe comorbidities, refusal to maintain surveillance, or failure to comply with two consecutively scheduled endoscopies), the case was not considered as diagnosed in the context of the surveillance program. To calculate surveillance time to achieve our secondary aim, the time elapsed from the index endoscopy to death, esophageal EAC or HGD diagnosis, or the end of June 30, 2013 (end of the study period), whichever occurred first, was considered.

All cases of EAC and HGD diagnosed during the first year of surveillance were considered as prevalent and excluded from the analysis. Patients were considered lost to follow-up if at the end of the study period (June 30, 2013), their status could not be assessed. This information was obtained from the National Health Service Users Registry. If the information was considered insufficient, the patients or their family members were contacted by phone or letter in order to obtain the missing information. As the Portuguese legislation does not allow obtaining information on the cause of death from death certificates, we obtained the information on death from esophageal cancer of the patients enrolled in the surveillance program from the South Regional Portuguese Cancer Registry.

Statistical analyses

As all continuous variables had a non-normal distribution, non-parametric tests were used to compare the means or distribution of two samples. Association between variables was tested by using the chi-square or Fisher exact test. The Kaplan-Meier test was used to estimate the probability of progression (or remaining free of progression) to HGD/EAC, and the log-rank test was used to compare the equality of progression distributions between two or more groups. Pairwise log-rank comparisons were conducted to determine which groups had different survival distributions. If more than two groups were considered, the level of statistical significance was adjusted to compensate for making multiple comparisons. Statistical analysis was conducted by using IBM SPSS Statistics version 21 (IBM, Armonk, New York, USA)

Results

Patients

The characteristics of the patients in our cohort are summarized in Table 1. Briefly, our cohort was composed of 331 patients with BE (251 males), whose median age at diagnosis was 59 years (interquartile range [IQR], 47-67 years). The median age at the end of the follow-up period was 65 years (IQR, 55-75 years). Two patients (0.6% of the cohort) were lost to follow-

up. The median BE length was 3 cm (IQR, 2-4 cm), with 39.6% of the segments classified as long. Endoscopic follow-up accounted for 2284 patient-years, with a median of 5 years (IQR, 2-10 years).

Incidence of EAC in the cohort

None of the patients in the cohort had prevalent EAC. During endoscopic follow-up, two patients were diagnosed with pT1 N0 EAC (Table 2). The median age at EAC diagnosis was 59 years, and cancer was diagnosed at a median follow-up of 9 years (95% confidence interval [95% CI], 4-9). The incidence of EAC was 0.9 (95% CI, 0.2-2.9) per 1000 patient-years of follow-up (Table 3). The annual risk of cancer was 0.09% (95% CI, 0.02-2.9).

Incidence of HGD in the cohort

Five cases of incident HGD were observed during endoscopic follow-up. The incidence of HGD in the endoscopic follow-up was 2.2 (95% CI, 0.8-4.9) per 1000 patient-years of follow-up. The annual risk of HGD was 0.22% (95% CI, 0.08-0.49).

Incidence of HGD or EAC in the cohort

When cases of HGD and EAC were considered together, seven cases were diagnosed during endoscopic follow-up, corresponding to an incidence of 3.1 (95% CI, 1.3-6.0) per 1000 patient-years. The annual risk of HGD or EAC was 0.31% (95% CI, 0.13-0.60).

An association between BE length and progression to HGD/EAC was observed, with SSBE cases having a low probability of progression (Fisher exact test, $p < 0.005$). The patients who progressed to HGD/EAC had significantly longer BE segments (6.4 vs 3.4 cm) than the patients who did not (Mann-Whitney test, $p = 0.03$). The observed incidence during endoscopic follow-up was 0.7 and 7.3 per 1000 patient-years in SSBE and long-segment BE, respectively ($p < 0.005$). If three classes of length were considered (subdividing long segments into ≤ 6 - and > 6 -cm segments), the observed incidence of HGD/EAC was progressively higher. The incidence in segments > 6 cm long was > 15 -fold greater than that observed in segments ≤ 3 cm long (Table 4). In the Kaplan-Meier analysis, the cumulative incidence of HGD/EAC significantly differed between the short and long segments ($p < 0.009$). The cumulative incidence of HGD and EAC also significantly differed between segments ≤ 3 cm, $> 3 \leq 6$ cm, and > 6 cm ($p < 0.01$). However, in the log-rank pairwise comparison test, the significant difference in cumulative incidence distribution was only observed in segments ≤ 3 cm and > 6 cm ($p < 0.02$).

Besides length, no other variables (sex, age, tobacco smoking, alcohol, diagnosis of low-grade dysplasia at 1 year or at any time of the follow-up, and medical or surgical treatment) were associated to neoplastic progression in our BE cohort.

EAC and HGD incidences and follow-up based on surveillance time calculated using the method used in population-based studies

When we used the population-based methodology as described in the Methods section, the follow-up of the cohort accounted for 3537 patient-years at risk (Table 5). In our cohort, 238 patients were followed up beyond the endoscopic surveillance time, accounting for 1253 patient-years of non-endoscopic follow-up (median, 3 years; IQR, 1-10 years). During this time, only one patient was diagnosed with EAC (stage IV) 8 years after being discharged from endoscopic follow-up because of failure to comply with two scheduled endoscopies and refusal to set a new appointment. When we considered only the patients with 2 or more years of non-endoscopic follow-up, the incidence of EAC was 0.8 (95% CI, 0.04-4.2) per 1000 patient-years.

Although the number of events, such as HGD, substantially differed between the two periods, the incidence analysis of HGD/EAC revealed no significant difference between intervention (endoscopic follow-up) and non-intervention (non-endoscopic follow-up). The HGD/EAC (n = 8) incidence in the entire cohort based on time of total follow-up calculated by using the method used in population-based studies was 2.2 (95% CI, 1.0-4.3) per 1000 patient-years. With this methodology, BE length was again the sole variable associated to progression.

Patients' outcomes

Eighty patients (24%) in the cohort died during the study period, but only one (0.3%) death was caused by EAC. This translates into an annual mortality rate from EAC of 0.3 per 1000 person-years (95% CI, 0.01-1.3) or 0.03% per annum. The patients who died were significantly older at the time of diagnosis and at the end of the follow-up period and had shorter endoscopic follow-up periods ($p < 0.005$) than those who were alive ($P < 0.005$). Total follow-up (endoscopic plus non-endoscopic) period did not differ between the patients who died and those who survived until the final surveillance follow-up ($p = 0.06$). The patients who died after being discharged from endoscopic surveillance (n = 69) were significantly older than those who died during endoscopic surveillance (78 vs 68 years; $p < 0.0005$).

Discussion

In the present study, the incidences of HGD, EAC, and HGD/EAC in a cohort of 331 patients with NDBE were calculated. Surveillance time was calculated by using two different methodologies. We observed low incidences of the different end points, that is, 0.09, 0.22, and 0.31 per 1000 patient-years for EAC, HGD, and HGD/EAC, respectively.

The reported risk of EAC associated to BE has significantly decreased in the past two decades. In the five meta-analysis⁶⁻¹⁰ published since 2000, the annual risk of EAC ranged from 0.33% to 0.7%. Two of these meta-analyses^{7, 9} reported a risk of EAC or HGD of approximately 1%. Desai¹⁶, in their meta-analysis, reported the lowest cancer incidence and claimed that the

higher incidence observed in the previous four meta-analyses was due to methodological errors, namely the inclusion of dysplastic cases, prevalent cancers, and duplicated reports.

Since the last meta-analysis, five reports on cancer incidence in NDBE^{5, 11, 17-19}, with the observed annual risk ranging from 0.12% to 0.25%. Four of these reports^{5, 11, 18, 19} indicated that the risk of HGD/EAC ranged from 0.26% to 0.85%. The lowest cancer and EAC/HGD incidence (0.12% and 0.26%, respectively) was reported by Hvid-Jensen⁵ in a population-based cohort of more than 11,000 Danish patients with BE.

Population-based studies tend to be associated with a low incidence of esophageal cancer. Despite the strengths of these studies, some limitations are evident^{14, 20}. As they generally used pathology databases, some of the cases might have been misdiagnosed as BE, and this might have lowered the observed risk. It must also be noted that these studies did not provide information about the use of ablative therapies in the cohort, and this might have biased the results. Furthermore, there is evidence that population-based studies included a high number of SSBE, which may have contributed to the observed lower risk.

Our results are below the lowest risk threshold in all but one of the recent studies (population based or not), despite coming from a referral center for BE. Recently, a study that used data from a BE registry of >1000 patients highlighted a greater risk of neoplastic progression than population-based registries¹⁹. Patients with dysplastic BE were carefully excluded from our cohort, and cases of prevalent cancers were excluded in the analysis. This explains in part our results, but other possible factors must be considered.

Two-thirds of the cohort had SSBE. This has been associated with a lower risk of cancer. In the meta-analysis by Desai, 16 of 57 studies provided information about the incidence of EAC in SSBE. For 967 patients and 4456 patient-years of follow-up (<10% of the total follow-up in the meta-analyses), cancer incidence of 1.9 cases per 1000 patient-years (vs 3.3 for the overall population) was observed. We must consider the possibility that the high prevalence (63%) of SSBE in our cohort could be responsible for the observed low incidence of neoplastic progression. However, a recent study from the United States by Anaparthi et al²¹ that included 1175 patients, of whom 61% had SSBE, showed an incidence of EAC of 0.26% and of EAC and HGD of 0.67%. In 721 patients with SSBE, the incidence rates were 0.1% and 0.31%, respectively. Thus, for a cohort with a prevalence of SSBE, mean BE length (3.6 cm), and mean follow-up (5.5 years) similar to those of our cohort, the observed cancer incidence in SSBE was comparable to that observed in our entire cohort. Therefore, other reasons besides SSBE prevalence must be identified to explain the observed low cancer risk. A recent study showed that based on persistence of NDBE over several endoscopic examinations, patients who were at low risk of developing EAC were identified²². In our cohort, the median number of surveillance endoscopies was 3, with 5 being the upper limit of the IQR.

Portugal has a low incidence of EAC. In 2009, the incidence of esophageal cancer in the southern region of Portugal, where the patients in the cohort lived, was 4.5 cases per 100.000 inhabitants (population at risk: 4 million; number of cases: 262)²³. However, only about one quarter of cancer cases was EAC. The low incidence of EAC may be related both to a low prevalence of BE or to BE with very low cancer risk. Our results show that the Portuguese population with BE has a very low risk of progression to HGD or EAC.

The accepted risk factors of BE progression to EAC include long BE length, male sex, and central obesity²⁴. Age, smoking, acid suppression therapy, and length of hiatal hernia have been also considered as predictors of BE progression²⁵. In the present study, we were unable to analyze the impact of obesity because information was not available for most of the patients in the cohort. Although progression to HGD or EAC was observed in male patients only, no significant differences were observed concerning sex. In our cohort, the length of BE was associated with HGD/EAC risk, which was tenfold higher in long-segment BE than in SSBE, indicating a statistically significant difference. As increased cancer risk in very long BE segments was reported²⁶, HGD/EAC risk in patients with long segments \leq or $>$ 6 cm long was also analyzed. Although the risk was twofold higher in longer segments, the difference was not statistically significant.

Of the 80 patients who died during the study period, only one died from EAC-related cause. In the meta-analysis by Sikkema⁹, overall mortality and mortality related to EAC were evaluated based on the information available from 17 of 51 studies. Deaths from EAC of the esophagus occurred in 1.4% of the patients (range, 0-2.6%), accounting for 7.4% of the observed deaths (range, 0-16.7%) and representing 57% of incident cancers (range, 0-100%).

Since the publication of the above-mentioned meta-analysis, at least three publications analyzed the question of mortality in BE patients²⁷⁻²⁹. Schouten et al²⁷, in a population-based cohort of 605 patients, reported 2.1% mortality related to EAC. Caygill et al²⁸, in three decades of experience at a single center, reported 3.9% mortality from EAC in 1175 patients. They also found that EAC accounted for the observed excess of deaths from cancer in the cohort. Solaymani-Dodaran et al²⁹ reported that mortality from EAC occurred in 0.5% of a cohort of 8448 patients and accounted for 4.5% of the mortality. This translated to an annual mortality rate of 0.14% per annum, with a 10-year cumulative risk of 2%.

In our cohort, death from esophageal cancer occurred in one-third of incidental cancers, a lower rate than that observed in previous studies. The reasons for this low mortality rate are unknown. A recent study showed that participation in an adequately performed surveillance program reduces mortality from EAC³⁰. Another recent study showed that EAC was detected, with good survival rates, at an earlier stage during BE surveillance compared with the general population³¹. This benefit of surveillance was not observed in another recent study³². In our cohort, most of the patients who progressed were diagnosed with HGD or superficial EAC. However, the “protective” effect of surveillance in our cohort seemed to have persisted

beyond the endoscopic surveillance period. A recent meta-analysis showed that PPI therapy was associated with a significantly decreased risk of progression to EAC or HGD and that long-term PPI use might provide a great benefit³³. The patients in our cohort had been receiving PPI for a long time. We must also admit that the observed low mortality from EAC could also be associated with the very low risk of neoplastic progression in our cohort.

When all types of follow-up (endoscopic and non-endoscopic) were considered, the observed risk of progression to EAC and HGD/EAC was similar to that observed only in the endoscopic surveillance.

The strengths of this study of a prospective cohort of BE patients include the following: a) a well-defined diagnostic criterion for BE for inclusion in the cohort; b) the exclusion of patients with any degree of dysplasia from the index endoscopy; c) the exclusion of patients referred to our center because of a previous diagnosis of dysplasia of any grade made elsewhere; d) the long-term follow-up, both endoscopic and total; and e) the very small number of patients lost to follow-up. Meanwhile, its limitations include the following: a) the size of the cohort, which was associated with the unexpected very low number of events and made us unable to derive more conclusions about the known risk factors of neoplastic progression; c) the inaccessible information on the cause of death besides cancer-related causes.

In conclusion, the incidences of EAC, HGD, and HGD/EAC in our cohort of Portuguese patients with BE were very low. This low incidence justifies the reassessment of surveillance guidelines, principally those for SSBE.

1. Cooper BT, Barbezat GO. Barrett's oesophagus: a clinical study of 52 patients. *Q J Med* 1987;62:97-108.
2. Hameeteman W, Tytgat GN, Houthoff HJ, et al. Barrett's esophagus: development of dysplasia and adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1989;96:1249-56.
3. Shaheen NJ, Crosby MA, Bozymski EM, et al. Is there publication bias in the reporting of cancer risk in Barrett's esophagus? *Gastroenterology* 2000;119:333-8.
4. de Jonge PJ, van Blankenstein M, Looman CW, et al. Risk of malignant progression in patients with Barrett's oesophagus: a Dutch nationwide cohort study. *Gut* 2010;59:1030-6.
5. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, et al. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 2011;365:1375-83.
6. Thomas T, Abrams KR, De Caestecker JS, et al. Meta analysis: Cancer risk in Barrett's oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:1465-77.
7. Yousef F, Cardwell C, Cantwell MM, et al. The incidence of esophageal cancer and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2008;168:237-49.
8. Wani S, Puli SR, Shaheen NJ, et al. Esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus after endoscopic ablative therapy: a meta-analysis and systematic review. *Am J Gastroenterol* 2009;104:502-13.
9. Sikkema M, de Jonge PJ, Steyerberg EW, et al. Risk of esophageal adenocarcinoma and mortality in patients with Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:235-44; quiz e32.
10. Desai TK, Krishnan K, Samala N, et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. *Gut* 2012;61:970-6.
11. Ruge M, Zaninotto G, Parente P, et al. Barrett's esophagus and adenocarcinoma risk: the experience of the North-Eastern Italian Registry (EBRA). *Ann Surg* 2012;256:788-94; discussion 794-5.
12. Wani S, Falk G, Hall M, et al. Patients with nondysplastic Barrett's esophagus have low risks for developing dysplasia or esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:220-7; quiz e26.
13. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, et al. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:1049-57.
14. Corley DA. Understanding cancer incidence in Barrett's esophagus: light at the end of the tunnel. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:994-5.
15. Sharma P, Dent J, Armstrong D, et al. The development and validation of an endoscopic grading system for Barrett's esophagus: the Prague C & M criteria. *Gastroenterology* 2006;131:1392-9.
16. Desai TK, Samala N. The incidence of esophageal adenocarcinoma among patients with nondysplastic Barrett's esophagus has been overestimated. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:363-4; author reply 364-5.
17. Cooper S, Menon S, Nightingale P, et al. Risk factors for the development of oesophageal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: a UK primary care retrospective nested case-control study. *United European Gastroenterol J* 2014;2:91-8.
18. Shakhathreh MH, Duan Z, Kramer J, et al. The incidence of esophageal adenocarcinoma in a national veterans cohort with Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1862-8; quiz 1861, 1869.
19. Picardo SL, O'Brien MP, Feighery R, et al. A Barrett's esophagus registry of over 1000 patients from a specialist center highlights greater risk of progression than population-based registries and high risk of low grade dysplasia. *Dis Esophagus* 2015;28:121-6.

20. Wani S. Population-based estimates of cancer and mortality in Barrett's esophagus: implications for the future. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:723-4.
21. Anaparthi R, Gaddam S, Kanakadandi V, et al. Association between length of Barrett's esophagus and risk of high-grade dysplasia or adenocarcinoma in patients without dysplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:1430-6.
22. Gaddam S, Singh M, Balasubramanian G, et al. Persistence of Nondysplastic Barrett's Esophagus Identifies Patients at Lower Risk for Esophageal Adenocarcinoma: Results From a Large Multicenter Cohort. *Gastroenterology* 2013;145:548-553 e1.
23. Sul ROR. Incidência, Sobrevivência e Mortalidade por cancro na região sul de Portugal - ISM 2008 | 2009. Lisboa: Registo Oncológico Regional Sul, 2014.
24. Bennett C, Moayyedi P, Corley DA, et al. BOB CAT: a Large-Scale Review and Delphi Consensus for Management of Barrett's Esophagus With No Dysplasia, Indefinite for, or Low-Grade Dysplasia. *Am J Gastroenterol* 2015;110:662-682.
25. Prasad GA, Bansal A, Sharma P, et al. Predictors of progression in Barrett's esophagus: current knowledge and future directions. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1490-1502.
26. Sikkema M, Looman CW, Steyerberg EW, et al. Predictors for neoplastic progression in patients with Barrett's Esophagus: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1231-8.
27. Schouten LJ, Steevens J, Huysentruyt CJ, et al. Total cancer incidence and overall mortality are not increased among patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:754-61.
28. Caygill CP, Royston C, Charlett A, et al. Mortality in Barrett's esophagus: three decades of experience at a single center. *Endoscopy* 2012;44:892-8.
29. Solaymani-Dodaran M, Card TR, West J. Cause-Specific Mortality of People With Barrett's Esophagus Compared With the General Population: A Population-Based Cohort Study. *Gastroenterology* 2013;144:1375-1383 e1.
30. Verbeek RE, Leenders M, Ten Kate FJ, et al. Surveillance of Barrett's esophagus and mortality from esophageal adenocarcinoma: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1215-22.
31. Kastelein F, van Olphen SH, Steyerberg EW, et al. Impact of surveillance for Barrett's oesophagus on tumour stage and survival of patients with neoplastic progression. *Gut* 2015.
32. Corley DA, Mehtani K, Quesenberry C, et al. Impact of endoscopic surveillance on mortality from Barrett's esophagus-associated esophageal adenocarcinomas. *Gastroenterology* 2013;145:312-9 e1.
33. Singh S, Garg SK, Singh PP, et al. Acid-suppressive medications and risk of oesophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's oesophagus: a systematic review and meta-analysis. *Gut* 2014;63:1229-37.

Table 1. Characteristics of the 331 patients with Barrett's esophagus

Sex	
Male - Number (%)	251 (75.8)
Female - Number (%)	80 (24.2)
Race	
Caucasians/Non-Caucasians	330/1
Age at diagnosis of Barrett's esophagus	
Median	59
Interquartile range	47-67
Age at end of endoscopic follow-up	
Median	65
Interquartile range	55-75
Age at end of total follow-up	
Median	69
Interquartile range	58-78
Length of Barrett's esophagus (I)	
Median	3
Interquartile range	2-4
Range (cm)	1-16
Length of Barrett's esophagus (II)	
Short segments/Long segments	208/123
Praga's classification	
Circular (C) - Median (interquartile range)	1 (0-3)
Maximum (M) - Median (interquartile range)	3(2-4)
Hiatal Hernia	
Yes/No - n (%)	258 (78)/73 (22)
Tobacco	
Current or former smoker/Nonsmoker - n (%)	86 (26)/245 (74)
Alcohol	
Current or former/Never - n (%)	118 (36)/213 (64)
Anti-reflux surgery	
n (%)	35 (10.6)
Status at the end of the study	
Alive - n (%)	231(75.8)
Dead - n (%)	80 (24.2)
Lost for follow-up - n (%)	2 (0,6)
Age of death - median (IQR)	79.5 (73.3-84)
Follow-up years - median (IQR)	10 (5 a 14)
Deaths from esophageal adenocarcinoma	
Number	1
% Cohort	0,3
% deaths	1,25

Table 2. Follow-up and incident cases of EAC and HGD in the cohort

	Endoscopic follow-up
Surveillance endoscopies	
n	932
Median	3
Interquartile range	2-5
Person-years at risk	2284
Follow-up	
Median (years)	5
Interquartile range	2-10
LGD cases in the first year endoscopy	
n	4
LGD cases after first year endoscopy	
n	8
Incident cases of EAC/ HGD	
n	7
Incident cases of EAC	
n	2
Age at diagnosis (years) - median	59
Follow-up until diagnosis (years) - median	9
Incident cases of HGD	
n	5
Age at diagnosis o (years) - median	57
Follow-up until diagnosis (years)- median	6

Table 3. Incidence of EAC and of HGD in the cohort

Variable	n	Endoscopic surveillance			
		Number person-year at risk	Number of events in study cohort	Incidence rate/1000 Person-Yr	
Adenocarcinoma					
Total cohort	331	2284	2	0.9 (0.2 - 2.9)	
Sex	Male	251	1725	2	1.2 (1.9 - 3.8)
	Female	80	559	0	-
Length	Short	208	1457	0	-
	Long	123	827	2	2.4 (0.4 - 8.0)
Length (cm)	≤3 cm	208	1457	0	-
	>3 ≤6 cm	90	577	1	1.7 (0.1 - 8.6)
	>6	33	250	1	4.0 (0.2 - 19.8)
High-grade dysplasia					
Total cohort	331	2284	5	2.2 (0.8 - 4.9)	
Sex	Male	251	1725	5	2.9 (1.1 - 6.4)
	Female	80	559	0	-
Length	Short	208	1457	1	0.7 (0.03 - 3.4)
	Long	123	827	4	4.8 (1.5 - 11.7)
Length (cm)	≤3 cm	208	1457	1	0.7 (0.03 - 3.4)
	>3 ≤6 cm	90	577	2	3.5 (0.6 - 11.5)
	>6	33	250	2	8.0 (1.3 - 26.4)

Table 4. Incidence of HGD/EAC in the cohort

Variable		n	Endoscopic surveillance		
			Number person-year at risk	Number of events in study cohort	Incidence rate/ 1000 Person-Yr (95%IC)
Total cohort		331	2284	7	3.1 (1.3 - 6.0)
Sex	Male	251	1725	7	4.1 (1.8- 8.0)
	Female	80	559	0	-
Length (cm)	≤3 cm	208	1457	1	0.7 (0.3 - 3.4)
	>3 ≤6 cm	90	577	3	5.2 (1.3 - 14.2)
	>6	33	250	3	12.0 (3.1 - 27.8)
Length	Short	208	1457	1	0.7 (0.3 - 3.4)
	Long	123	827	6	7.3 (2.9 - 15.1)

Table 5. Incidence of HGD/EAC in the cohort considering surveillance time calculation methodology used by population-based studies

Variable		n	Total Surveillance		
			Number person-year at risk	Number of events in study cohort	Incidence rate/ 1000 Person-Yr (95%IC)
Total cohort		331	3537	8	2.2 (1.0 - 4.3)
Sex	Male	251	2605	8	3.1 (1.4 - 5.8)
	Female	80	932	0	-
Length (cm)	≤3 cm	208	2304	1	0.4 (0.2 - 2.4)
	>3 ≤6 cm	90	859	3	3.5 (0.9 - 9.5)
	>6	33	374	4	10.7 (4.0 - 28.5)
Length	Short	208	2304	1	0.4 (0.2 - 2.4)
	Long	123	1233	7	5.7 (2.5-11.2)

6.2. Dysplasia in Barrett's esophagus: intraobserver and interobserver concordance in diagnosis and classification

Dysplasia in Barrett's esophagus: intraobserver and interobserver concordance in diagnosis and classification

A. Dias Pereira ^{1,2}, Ricardo Fonseca ³, Paula Borralho ⁴, Paula Chaves^{3,2}

Affiliations

¹ Gastroenterology Department, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE

² Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior

³ Pathology Department, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE

⁴ Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

Corresponding author:

António Dias Pereira

Gastroenterology Department

Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE

Rua Professor Lima Basto

1099-023 Lisboa

Portugal

Phone: +3519702352

E-mail: adiaspereira1@gmail.com

Abstract

Introduction

Dysplasia is the sole risk marker of cancer in Barrett's esophagus that has been validated in clinical practice. For a long time, both intraobserver and interobserver correlations in the diagnosis and classification of dysplasia have been known to be weak. This is more evident in both extremes of the spectrum of dysplasia. Recently, confirmed low-grade dysplasia was shown to be associated with a high risk of progression to high-grade dysplasia or adenocarcinoma.

Aims

The principal aim of this study was to analyze intraobserver and interobserver agreement in the diagnosis of indefinite and low-grade dysplasia in Barrett's esophagus. As our secondary aim, we evaluated the impact of pathologists' agreement of dysplasia diagnosis on the risk of progression to high-grade dysplasia or adenocarcinoma.

Material and Methods

Biopsy samples of Barrett's esophagus classified as indefinite for dysplasia, low-grade dysplasia, and dysplasia-negative were randomly and blindly reviewed and classified by 3 gastrointestinal pathologists. Kappa statistics was used to evaluate interobserver and intraobserver agreement.

Results

Intraobserver agreement was moderate ($k = 0.47$) in the diagnosis of low-grade/indefinite dysplasia and excellent ($k = 0.82$) in the diagnosis of dysplasia/no dysplasia. Interobserver agreement was poor ($k = 0.14$) for the samples initially classified as indefinite dysplasia and moderate ($k = 0.59$) for those initially classified as low-grade dysplasia. It was substantial ($k = 0.64$) when all the samples were classified as non-dysplastic or dysplastic. When 2 or more pathologists agreed with the previous diagnosis of low-grade dysplasia, about half of the patients progressed to high-grade dysplasia or adenocarcinoma, and agreement between pathologists was associated with progression ($p < 0.02$).

Conclusion

Intraobserver and interobserver agreement ranged from moderate to substantial in the diagnosis of low-grade dysplasia and distinction between ND cases and cases with lower grades of dysplasia (IND and LGD). When 2 or more gastrointestinal pathologists agreed with LGD diagnosis, the risk of progression was high, and ablation of Barrett's esophagus seems justified.

Introduction

Barrett's esophagus (BE) results from the replacement of the squamous epithelium, which normally lines the distal esophagus, by a metaplastic columnar epithelium with intestinal features¹. BE is a well-known complication of gastroesophageal reflux and is associated with an increased risk of esophageal adenocarcinoma, which has been estimated to be 0.5% per year and substantially higher in BE patients with dysplasia¹.

Cancer progression in BE occurs along the pathway from metaplasia to dysplasia and adenocarcinoma (ADC). Dysplasia is the sole risk marker of cancer in BE that has been validated in clinical practice^{2, 3}. Dysplasia can be defined as the presence of neoplastic epithelium that is confined within the basement membrane of the gland within which it arises⁴. By using the criteria proposed by Riddel et al⁴ for inflammatory bowel disease, cases can be classified as dysplasia-negative (ND), dysplasia-positive (either low-grade [LGD] or high-grade [HGD]), or indefinite for dysplasia (IND). Although cytological and architectural criteria for the diagnosis of dysplasia have been extensively described and reviewed⁵, dysplasia classification in BE tends to be overrated by community pathologists. In fact, as BE is metaplastic, baseline atypia is always present and, according to Goldblum⁵, must have been overlooked in the diagnosis of dysplasia.

Intraobserver and interobserver correlation in the diagnosis and classification of dysplasia is well known to be weak. According to Reid et al⁶, observer concordance is low in both ends of the scale, that is, distinguishing ND from IND, or LGD and HGD from intramucosal ADC. Montgomery et al² also found a high degree of intraobserver and interobserver variation in the diagnosis of IND and LGD, even among gastrointestinal pathologists. Recently, this variability between general and gastrointestinal pathologists was also confirmed in the diagnosis of dysplasia⁷.

The annual risk of progression to cancer in patients with HGD is about 6%⁸. The annual risk of progression associated to LGD was highly varied in large cohorts, ranging from 0.2%⁹ to 3%¹⁰. The risk associated with the diagnosis of IND is even less known¹¹. Nevertheless, 2 large population studies showed that the cancer risk is 5 times higher in BE patients with LGD than in non-dysplastic BE patients^{12, 13}.

Recently, effective but expensive ablation methods for BE have become available. Radiofrequency is now considered the method of choice for the ablation of BE with flat, nonvisible HGD and for residual BE after endoscopic resection of visible dysplastic lesions or superficial ADCs^{14, 15}. The indication for ablation of non-dysplastic BE or BE with dysplasia lower than HGD remains controversial^{16, 17}. However, it was recently shown that under specific conditions, the risk associated with the diagnosis of LGD is high enough to consider ablation as a cost-effective procedure. Confirmation of the diagnosis by a second pathologist, especially by a gastrointestinal pathologist, is associated with a 9.1% risk of progression either

to HGD or ADC, compared with a risk of less than 1% if dysplasia was downgraded¹⁸.

The principal aim of the present study was to analyze intraobserver and interobserver agreement in the diagnosis of IND and LGD in BE. As a secondary aim, we evaluated the impact of pathologists' agreement in LGD diagnosis on the risk of progression to HGD or ADC.

Materials and Methods

We searched for biopsy reports with the diagnosis of LGD or IND in our institutional (Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil) BE surveillance program database. For the purposes of this study, both prevalent (present in the index endoscopy) and incident (diagnosis during surveillance) cases of IND and LGD were considered. A single gastrointestinal pathologist (PC) read the results of almost all endoscopic biopsies performed in the surveillance program. Only cases of HGD were systematically assessed by an independent gastrointestinal pathologist.

According to our aim, to test the intraobserver and interobserver agreement in the diagnosis of IND and LGD in conditions resembling clinical practice, BE biopsy results classified as negative for dysplasia were also selected. From the database, we randomly selected and included in our study biopsies negative for dysplasia that were obtained from patients who were found to have had no dysplasia during surveillance.

The observers in this study were 3 pathologists with extensive experiences in general gastrointestinal pathology and in BE (Pathologist 1 [P1]), in gastric pathology and serrated adenomas (Pathologist 2 [P2]), and in inflammatory bowel disease (Pathologist 3 [P3]), respectively.

Intraobserver agreement was calculated based on 2 distinct slide observations of P1, the first in the context of the surveillance program and the second in achieving the purposes of this study. For interobserver agreement evaluation, the 3 pathologists were grouped in 3 pairs as follows: pair 1 (P1 and P2), pair 2 (P2 and P3), and pair 3 (P1 and P3).

Slides were randomly grouped in 3 sets and circulated among the pathologists. The pathologists were given information that the slides were from BE patients whose dysplasias were graded from negative to LGD. Only the gastroenterologist involved in this study (ADP) knew the key linking the slides to the initial diagnosis and to the patients' identification.

Statistical analyses

Intraobserver and interobserver agreement among the pathologists was determined by using the *k* statistic, a mathematical coefficient that provides a measure of agreement, accounting for agreement other than that which occurs only by chance¹⁹. Corresponding 95% confidence intervals for the *k* values for each dysplasia grade were also calculated. For the evaluation of

interrater agreement between 2 raters, Cohen's κ was used, and Fleiss' κ was used for multiple raters. A k value of 0 indicates no agreement, better than what would be expected by chance alone. The strength of the agreement was classified according to the criteria proposed by Landis and Koch for k values as follows: <0.21, poor; 0.21-0.40, fair; 0.41-0.60, moderate; 0.61-0.80, substantial; and 0.81-1.00, excellent. Statistical analysis was conducted by using IBM SPSS Statistics version 21 (IBM, Armonk, New York, USA). Statistical significance was considered when $P < 0.05$, that is, that the k value found is significantly different from zero. Association between variables was tested by using a chi-square or Fisher exact test if expected frequencies were <5.

Results

The same numbers of biopsy results graded as IND and LGD ($n = 27$) were found in the database. Thus, 27 cases with biopsy results negative for dysplasia were selected. Due to degradation of the staining of the slides that precluded histological interpretation, 4 slides classified as ND, 1 slide classified as IND, and 2 slides classified as LGD were excluded from the study. Finally, 26 slides graded as IND (from 16 patients, 15 men; mean age, 62 years), 25 slides graded as LGD (from 17 patients, 16 men; mean age, 61.5 years), and 23 slides graded as negative (from 23 patients, 21 men; mean age, 58 years) were blindly evaluated by the 3 pathologists.

The pathologists' classification of the dysplasia cases initially labeled as IND and LGD is described in Table 1. Briefly, the 3 pathologists downgraded dysplasia in 12% to 16% of the slides initially graded as IND and upgraded it to LGD in 4% to 73% of the slides. When the initial diagnosis was LGD, the variation was much less pronounced. The diagnosis of LGD was maintained from 60% to 68% of the cases and downgraded from 32% to 40%, that is, to IND or ND

Intraobserver agreement between the initial and recent dysplasia grading by P1 is described in Table 2. Agreement in the diagnosis of dysplasia (IND/LGD; $n = 51$) was moderate and was substantial for the entire sample (no dysplasia/IND/LGD; $n = 73$). Intraobserver agreement that used 2 categories for the entire sample (dysplasia/no dysplasia; $n = 73$) was excellent. Concerning the reclassification of dysplasia grade by the same observer (PC), the cases classified as IND were maintained in 81% of the cases, downgraded in 15%, and upgraded in 4%. Changes in grade were more pronounced for samples labeled as LGD. The grading was maintained only in 60% of the samples, downgraded to IND in 32%, and became negative in 8%.

We evaluated the interobserver agreement between the 3 pairs of pathologists for samples that were initially graded as LGD and IND, as well for all samples considering 3 (no dysplasia/IND/LGD) or 2 (no dysplasia/dysplasia) broad categories. Results are summarized in

Table 3. Lower interobserver agreement was observed in the classification of the slides previously graded as IND, where the best k value corresponds to moderate agreement and the low limit of 95% confidence interval was 0, no better than if it was by chance, in 2 pairs. The best agreement (moderate and substantial) was observed in cases previously labeled as LGD and when 2 categories were considered (dysplasia versus no dysplasia) for the entire sample. The best agreement for patients labeled initially as LGD or IND was observed in pair 2 (substantial and moderate, respectively). Interobserver agreement between the 3 pathologists was calculated, and we observed that it was moderate for all the considered categories, except for IND, which was poor. However, if categories were simplified to ND and non-ND, the interobserver agreement was substantial ($k = 0.66$).

In 16 histological slides from 11 patients, dysplasia was graded as LGD by at least 2 pathologists. The follow-up data and outcomes of these 11 patients are summarized in Table 4. Of these patients, 3 had regression of the dysplasia, of whom 1 remained alive 13 years after the diagnosis and 2 died 5 and 12 years after the diagnosis from unrelated causes, all without evidence of neoplastic progression. In the other 3 patients, endoscopic resection and/or ablation of the mucosa were performed. Thus, in the 8 patients in whom the natural history of BE was not altered, 5 (62.5%) progressed to HGD (1) or ADC (4) after an interval ranging from 1 to 8 years. Considering the 11 patients in whom LGD was diagnosed by at least 2 pathologists, the rate of progression to HGD or ADC was 45.5%. Agreement in the diagnosis of LGD was statistically associated with progression ($p < 0.02$).

On revision, 2 ($n = 10$) or 3 ($n = 1$) pathologists graded 11 slides (from 8 patients) as LGD, which were initially classified as IND. In 2 (25%) of the 8 patients, progressions to HGD ($n = 1$) and ADC ($n = 1$) were observed 2 years and 1 year after the diagnosis, respectively. The other 6 regressed to ND, and no evidence of progression was found after a median follow-up of 6 years. In patients with a previous diagnosis of IND, the upgrade to LGD as graded by at least 2 pathologists was not associated to neoplastic progression to HGD or ADC ($p > 0.05$).

Discussion

Dysplasia currently remains the sole diagnostic tool used in clinical practice to determine the risk of progression to HGD or ADC in BE. Concurring with previous reports^{2, 6, 7} the present study showed high interobserver variability in the diagnosis of the lower grades of dysplasia (IND and LGD).

In the present study, the k value among the 3 pathologists was moderate ($k = 0.59$) for LGD (as it was for each of the 3 pairs) and poor ($k = 0.14$) for IND (ranging from poor to moderate among the pairs of pathologists).

The number of published studies on interobserver variability in LGD diagnosis in BE is small^{6, 7, 20-22}. Reid et al observed that although the agreement between experienced pathologists

was 85% in differentiating cases of ND/IND/LGD from cases of HGD/ADC, agreement fell to around 60% when they differentiated dysplasia-negative cases from cases of IND/LGD ⁶. Montgomery et al showed that the interobserver agreement between 12 gastrointestinal pathologists in the diagnosis of LGD was only fair ($k = 0.32$). After a consensus meeting, interobserver variation improved overall, but not in differentiating between non-dysplastic Barrett, IND, and LGD ²⁰. In the study by Skacel et al ²¹, a low agreement in the diagnosis of LGD between 3 pairs of experienced gastrointestinal pathologists was observed, being fair in 1 pair and poor in the other 2 pairs. Kherkhof et al ⁷ reported considerable interobserver variability ($k = 0.25$) in the interpretation of ND or IND/LGD between non-expert and expert pathologists but also between expert pathologists ⁷. Recently, 3 pathologists revised blindly 41 cases of BE IND and an equal number of cases with no dysplasia, LGD, HGD, and ADC ($n = 15$) ²². The interobserver agreement between the 3 pairs of pathologists for the cases of LGD was fair ($k = 0.29$), ranging from poor to fair in individual pairs.

Concerning IND, the information about interobserver agreement is much more scarce. In general, interobserver agreement is even lower for IND than for LGD ^{11, 20, 22}. Montgomery et al found that agreement between 12 pathologists was poor ($k = 0.14$) and did not increase after a consensus meeting ($k = 0.15$) ²⁰. Sonwalkar et al ²² observed a poor agreement ($k = 0.18$) between 3 pathologists in the diagnosis of samples previously labeled as IND, although in individual pairs, the agreement ranged from fair to moderate ($k = 0.21, 0.34, \text{ and } 0.49$). Recently, Horvath et al ¹¹ observed a fair agreement ($k = 0.33$) between 5 gastrointestinal pathologists in 107 patients diagnosed with Barrett's IND, when categories were simplified as either negative or non-negative. Using the same methodology as that used by Horvath et al, we observed that interobserver agreement between the 3 pathologists was substantial ($k = 0.66$). Some reasons have been proposed for the variability in the grading of dysplasia as IND. Sonwalkar et al ²² states that IND is one of the types of dysplasia that is most difficult to categorize, as this acknowledges the overlap between pathological appearances of inflammatory changes and dysplasia. Besides this reason, for a confident diagnosis of dysplasia, the epithelial abnormalities should not only be present in the crypts but also involve the surface epithelium. However, biopsies often show dysplastic crypts, but the surface epithelium is uninvolved, denuded, or replaced by squamous epithelium ²³. In such instances of crypt cell dysplasia ²⁴, biopsies are often classified as IND ²³, but regenerating epithelium, particularly in the setting of active inflammation or ulceration, may, on occasions, show a considerable degree of cytological atypia similar to that in LGD or even HGD ²⁴

Montgomery et al ²⁰ reported a study in which 125 slides of non-dysplastic and dysplastic (IND, LGD, and HGD) BE biopsy samples, as well as of intramucosal and frankly invasive ADCs, were circulated to each of 12 participants twice over a 12-month period. The authors reported an excellent intraobserver agreement ($k = 0.82$) between the 12 pathologists if biopsy samples were classified in 2 broad categories, namely LGD and lower, and HGD and higher. If a more

clinically relevant grouping was used (negative, IND, LGD, HGD, or ADC), a substantial agreement ($k = 0.64$) was observed. Intraobserver agreement did not change after a consensus meeting, having observed only marginal deviations in k values. In the present study, intraobserver agreement was evaluated by using the initial diagnosis made by 1 pathologist (PC) in the surveillance program and the blinded classification of the samples selected for this study. In this context, intraobserver agreement was evaluated based on 2 observations made with a long and high variable interval. Although the spectrum of the histological classification we used was narrower than that in Montgomery's study²⁰, we also observed excellent agreement ($k = 0.82$) when we used 2 broad categories, namely non-dysplastic and dysplastic (IND and LGD). A substantial agreement was observed in our study ($k = 0.70$) when all of the samples were classified in 3 categories (NEG, IND, and LGD).

The risk of progression to HGD or ADC due to IND or LGD is not fully understood. In the past 5 years, the results of 9 cohorts of patients with LGD were published^{12, 13, 18, 25-30}. The risk of ADC has ranged from 0.24% to 3.33%, and the risk of ADC or HGD has ranged from 0.73% to 13.3%. Since 2013, the results of 5 cohorts^{11, 23, 29, 31, 32} of patients with BE with a diagnosis of IND were published, and the observed risk of progression to ADC or HGD ranged from 1.2% to 1.4%. Risks of ADC were only reported in 3 studies as follows: 0²⁹, 0.21%³⁰, and 0.8%³¹, respectively. In the study of Sinh et al³⁰, the risk observed in IND did not differ from that associated to LGD.

LGD in BE has been associated with widely varied risk levels of neoplastic progression and thus warrants the need for risk stratification in these patients. Evidence suggests that the agreement in the diagnosis of LGD by 2 or more gastrointestinal pathologists^{2, 21} or the revision by experts of this diagnosis made by community pathologists^{18, 26} allow for risk stratification.

In the study of Montgomery et al², a consensus diagnosis of LGD in 15 patients from a pool of 26 patients who were initially diagnosed with BE has increased the cancer rate from 15% to 20% and the HGD/ADC rate from 31% to 47%. In the study of Skacel et al²¹, 7 of 43 patients with LGD progressed to HGD or ADC. The individual diagnosis did not correlate with progression, but the agreement by 2 or more pathologists was associated with a significant risk of progression. If 2 pathologists agreed with the diagnosis, progression occurred in 7 (41%) of 17 patients. When all 3 pathologists agreed, 80% (4/5) of the cases progressed.

In their 2 recent studies, the same group^{18, 26} reported a significant association of HGD or ADC risk with the revision by experts of the diagnosis of LGD. In the study of Curvers et al²⁶, the initial diagnosis of LGD was downstaged in 85% of the cases to ND or IND. For patients in whom the diagnosis was maintained, the cumulative risk of HGD/ADC was 85% in 9 years of follow-up, compared with a risk of 4.6% in downstaged cases. Duits et al¹⁸ published the results of a larger cohort (293 patients) in which the initial diagnosis of LGD was downgraded to IND or ND in 76%. Follow-up, with a median of 39 months, was available in 264 patients.

For cases confirmed as LGD, the risk of HGD/ADC was 9.1% per patient-year, significantly higher than that for cases that were downstaged (0.6% and 0.9% per patient-year downstaged to ND and IND, respectively.)

Recently, in a large series of 210 BE patients with LGD, Wani et al ²⁷ were unable to identify any of the following risk factors of progression: patient age, length of BE, extent of LGD, or agreement between pathologists. However, in this study, the patients were initially observed in tertiary care centers with expert gastrointestinal pathologists.

In the present study, we found a statistically significant association between the pathologists' agreement in LGD diagnosis in the patients previously diagnosed LGD and progression to HGD or ADC. This association was not observed in the patients previously diagnosed with IND. As previously reported in the literature ^{20, 21}, the observed rate of progression of LGD to HGD or ADC was high if 2 or more pathologists agreed in the diagnosis of LGD. In the present study, the previous diagnosis was confirmed by at least 2 pathologists; otherwise, none of the 3 agreed with it. If we examine our results in terms of confirmation of the initial diagnosis of LGD by most of the pathologists who reviewed the biopsy results, these were similar to published results, that is, a high rate of progression when the diagnosis was confirmed and no progression if this was not the case ^{18, 26}.

Our results are in the line with 2 recent reviews that stated that at least 2 experienced gastrointestinal pathologists should be involved in the diagnosis of dysplasia in BE ^{33, 34}. The most recent guidelines clearly state that this includes also IND diagnosis.

Ablation of non-dysplastic BE is controversial, but due to the low risk of progression, most authors agree that evidence in favor of ablation is insufficient. The discussion concerning dysplastic BE was clarified recently by 2 studies that compared between ablation and non-ablation for confirmed LGD ^{35, 36}. Both showed significantly reduced rates of progression to HGD or ADC in the ablation group compared with the surveillance group (from 26.5% to 1.5% after a mean follow-up of 36 months ³³ and from 6.6% to 0.77% per annum ³⁴).

In the present study, even when taking into consideration patients ablated for LGD as non-responders and an efficacy rate of approximately 95% for ablation, the number of patients with a confirmed diagnosis of LGD by at least 2 pathologists, who needed to be treated to prevent either HGD or ADC, would be around 2. Under these circumstances, we consider that our results support ablation of BE with LGD if it is graded as such by at least 2 experienced gastrointestinal pathologists.

In conclusion, our results confirm previous reports of moderate to substantial intraobserver and interobserver agreement in BE diagnosed as LGD, as well as in the distinction between ND cases and cases with lower grades of dysplasia (IND and LGD). When at least 2 pathologists agreed with the LGD diagnosis, the observed risk of progression was high. Our results also

support the use of ablative treatments in the subset of patients diagnosed with LGD as agreed by at least 2 gastrointestinal pathologists.

References

1. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, et al. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;140:1084-91.
2. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, et al. Dysplasia as a predictive marker for invasive carcinoma in Barrett esophagus: a follow-up study based on 138 cases from a diagnostic variability study. *Hum Pathol* 2001;32:379-88.
3. Goldblum JR, Lauwers GY. Dysplasia arising in barrett's esophagus: diagnostic pitfalls and natural history. *Semin Diagn Pathol* 2002;19:12-9.
4. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 1983;14:931-68.
5. Goldblum JR. Controversies in the diagnosis of Barrett esophagus and Barrett-related dysplasia: one pathologist's perspective. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:1479-84.
6. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol* 1988;19:166-78.
7. Kerkhof M, van Dekken H, Steyerberg EW, et al. Grading of dysplasia in Barrett's oesophagus: substantial interobserver variation between general and gastrointestinal pathologists. *Histopathology* 2007;50:920-7.
8. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, et al. American Gastroenterological Association technical review on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;140:e18-52; quiz e13.
9. Schnell TG, Sontag SJ, Chejfec G, et al. Long-term nonsurgical management of Barrett's esophagus with high-grade dysplasia. *Gastroenterology* 2001;120:1607-19.
10. Lim CH, Treanor D, Dixon MF, et al. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus has a high risk of progression. *Endoscopy* 2007;39:581-7.
11. Horvath B, Singh P, Xie H, et al. Risk for esophageal neoplasia in Barrett's esophagus patients with mucosal changes indefinite for dysplasia. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30:262-7.
12. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, et al. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 2011;365:1375-83.
13. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, et al. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:1049-57.
14. Shaheen NJ, Sharma P, Overholt BF, et al. Radiofrequency ablation in Barrett's esophagus with dysplasia. *N Engl J Med* 2009;360:2277-88.
15. Pouw RE, Wirths K, Eisendrath P, et al. Efficacy of radiofrequency ablation combined with endoscopic resection for barrett's esophagus with early neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:23-9.
16. Fleischer DE, Odze R, Overholt BF, et al. The case for endoscopic treatment of non-dysplastic and low-grade dysplastic Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci* 2010;55:1918-31.
17. Triadafilopoulos G. Blitzkrieg for barrett's esophagus containing early neoplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:7-9.

18. Duits LC, Phoa KN, Curvers WL, et al. Barrett's oesophagus patients with low-grade dysplasia can be accurately risk-stratified after histological review by an expert pathology panel. *Gut* 2014.
19. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-74.
20. Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR, et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol* 2001;32:368-78.
21. Skacel M, Petras RE, Gramlich TL, et al. The diagnosis of low-grade dysplasia in Barrett's esophagus and its implications for disease progression. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3383-7.
22. Sonwalkar SA, Rotimi O, Scott N, et al. A study of indefinite for dysplasia in Barrett's oesophagus: reproducibility of diagnosis, clinical outcomes and predicting progression with AMACR (alpha-methylacyl-CoA-racemase). *Histopathology* 2010;56:900-7.
23. Younes M, Lauwers GY, Ertan A, et al. The significance of "indefinite for dysplasia" grading in Barrett metaplasia. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:430-2.
24. Odze RD. Diagnosis and grading of dysplasia in Barrett's oesophagus. *J Clin Pathol* 2006;59:1029-38.
25. Schouten LJ, Steevens J, Huysentruyt CJ, et al. Total cancer incidence and overall mortality are not increased among patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:754-61.
26. Curvers WL, ten Kate FJ, Krishnadath KK, et al. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus: overdiagnosed and underestimated. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1523-30.
27. Wani S, Falk GW, Post J, et al. Risk factors for progression of low-grade dysplasia in patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;141:1179-86, 1186 e1.
28. Jung KW, Talley NJ, Romero Y, et al. Epidemiology and natural history of intestinal metaplasia of the gastroesophageal junction and Barrett's esophagus: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1447-55; quiz 1456.
29. Thota PN, Lee HJ, Goldblum JR, et al. Risk Stratification of Patients With Barrett's Esophagus and Low-grade Dysplasia or Indefinite for Dysplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014.
30. Picardo SL, O'Brien MP, Feighery R, et al. A Barrett's esophagus registry of over 1000 patients from a specialist center highlights greater risk of progression than population-based registries and high risk of low grade dysplasia. *Dis Esophagus* 2015;28:121-6.
31. Kestens C, Leenders M, Offerhaus GJ, et al. Risk of neoplastic progression in Barrett's esophagus diagnosed as indefinite for dysplasia: a nationwide cohort study. *Endoscopy* 2014.
32. Sinh P, Anaparthi R, Young PE, et al. Clinical outcomes in patients with a diagnosis of "indefinite for dysplasia" in Barrett's esophagus: a multicenter cohort study. *Endoscopy* 2015.
33. Bennett C, Vakil N, Bergman J, et al. Consensus statements for management of Barrett's dysplasia and early-stage esophageal adenocarcinoma, based on a Delphi process. *Gastroenterology* 2012;143:336-46.
34. Bennett C, Moayyedi P, Corley DA, et al. BOB CAT: a Large-Scale Review and Delphi Consensus for Management of Barrett's Esophagus With No Dysplasia, Indefinite for, or Low-Grade Dysplasia. *Am J Gastroenterol* 2015;110:662-682.
35. Phoa KN, van Vilsteren FG, Weusten BL, et al. Radiofrequency ablation vs endoscopic surveillance for patients with Barrett esophagus and low-grade dysplasia: a randomized clinical trial. *JAMA* 2014;311:1209-17.
36. Small AJ, Araujo JL, Leggett CL, et al. Radiofrequency Ablation is Associated with Decreased Neoplastic Progression in Patients with Barrett's Esophagus and Confirmed Low-Grade Dysplasia. *Gastroenterology* 2015.

Table 1. Dysplasia grading of dysplasia of each pathologist in relation to initial diagnosis

	Pathologist 1			Pathologist 2			Pathologist 3		
	↓	↔	↑	↓	↔	↑	↓	↔	↑
IND	4	21	1	3	12	11	3	4	19
LGD	10*	15	NA	8*	17	NA	10*	15	NA

NA - Not applicable ↓ - Downgraded ↔ - No change ↑ - Upgraded

* Downgraded to negative or indefinite

Table 2. Intraobserver agreement in the grading of dysplasia

Dysplasia grade	Pathologist 1	
	K value (95% CI)	P value
IND/LGD	0.47 (0.24 - 0.70)	<0.005
ND/IND/LGD	0.70 (0.56 - 0.83)	<0.005
ND versus IND/LGD	0.82 (0.69 - 0.92)	<0.005

ND - Negative for dysplasia IND - Indefinite for dysplasia LGD - Low-grade dysplasia

95% CI - 95% confidence interval

Table 3. Interobserver agreement in Barrett's esophagus graded as indefinite or low-grade dysplasia

Initial Dysplasia Grade	k value (95% CI)			
	Pair 1 *	Pair 2 *	Pair 3 *	P1, P2, P3 **
LGD	0.6 (0.28 - 0.91)	0.77 (0.52 - 1)	0.42 (0.09 - 0.75)	0.59
IND	0.23 (0 - 0.56)	0.43 (0.13 - 0.73)	0.07 (0 - 0.27) ***	0.15
ND/IND/LGD	0.6 (0.45 - 0.75)	0.57 (0.41 - 0.72)	0.22 (0.06 - 0.38)	0.45
ND vs Dysplasia	0.82 (0.69 - 0.76)	0.56 (0.35 - 0.78)	0.42 (0.20 - 0.65)	0.64

LGD - Low-grade dysplasia IND - Indefinite for dysplasia ND - Negative for dysplasia

CI - Confidence interval * Cohen's k statistics ** Fleiss' k statistics (no 95% confidence interval)

P < 0.05 for all k values except for ***

Table 4 - Outcomes of patients in whom two or more pathologists agreed in LGD diagnosis

Patient	Number of UGiE with LGD diagnosis by ≥ 2 pathologists	Maximum number of pathologists who agreed in LGD diagnosis (n)	Progression	Time to progression (Years)	Treatment	Outcome
1	1	2	No	NA	None	Alive*
2	1	2	No	NA	None	Death**
3	1	3	No	NA	None	Death**
4 ⁽¹⁾	5	3	No	NA	Mucosectomy/RFA	Alive
5	2	3	No	NA	RFA	Alive
6	1	3	No	NA	RFA	Alive
7	1	3	HGD	5	Esophagectomy	Alive
8	1	3	ADC (Stage I)	4	Esophagectomy	Alive
9	1	3	ADC (Stage I)	1	Esophagectomy	Alive
10	1	3	ADC (Stage I)	3	Esophagectomy	Alive
11	1	3	ADC (Stage IV)	8	Palliative care	Death

ADC - Adenocarcinoma HGD - High-grade dysplasia LGD - Low-grade dysplasia NA - Not applicable

RFA - Radiofrequency ablation

UGiE - Upper gastrointestinal endoscopy

* 13 years after low-grade dysplasia, with no evidence of dysplasia in regular surveillance

** Dead, of unrelated causes, 5 and 12 years after LGD diagnosis without evidence of esophageal cancer

⁽¹⁾This patient developed a visible lesion. Mucosectomy sample graded as LGD.

6.3. Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years

Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years

A. Dias Pereira^{*,†} & P. Chaves^{†,‡}

*Department of Gastroenterology, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE, Lisbon, Portugal.

†Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal.

‡Department of Pathology, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE, Lisbon, Portugal.

Correspondence to:

Dr A. Dias Pereira, Serviço de Gastreenterologia, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE, Rua Professor Lima Basto, 1099-023 Lisboa, Portugal.
E-mail: adiaspereira1@gmail.com

Publication data

Submitted 29 February 2012
First decision 12 March 2012
Resubmitted 11 May 2012
Accepted 14 May 2012
EV Pub Online 3 June 2012

SUMMARY

Background

The definition of Barrett's oesophagus lacks consensus, particularly the requirement of intestinal metaplasia for diagnosis. Scarce information exists on the prevalence and natural history of columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia.

Aim

To evaluate the demographics and natural history of columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia ≥ 2 cm in length.

Methods

Patients with columnar-lined oesophagus ≥ 2 cm in length and no intestinal metaplasia in biopsy specimens from two consecutive endoscopies with at least a 1-year interval were prospectively followed. A cohort of Barrett's oesophagus patients was used as a control.

Results

Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia ($n = 15$) had a similar gender distribution, reflux symptoms prevalence and length as those of Barrett's oesophagus ($n = 205$). Patients were significantly younger (28.6 vs. 60 years, $P < 0.0001$) and accounted for 48% of patients aged <40 years in the two cohorts, but only 1% of those aged >40 years ($P < 0.001$). Patient distribution in both cohorts in 5 age brackets (0–19, 20–29, 30–39, 40–49, and >50 years) was significantly different, except for patients aged 40–49 years. Intestinal metaplasia was documented in 60% of the cohort after a mean follow-up of 7.1 years.

Conclusions

Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia ≥ 2 cm is infrequent in the setting of a systematic biopsy protocol, is associated with a younger age in comparison with Barrett's oesophagus, and appears to be an intermediate step between squamous and intestinal lining of the oesophagus.

Aliment Pharmacol Ther 2012; **36**: 282–289

INTRODUCTION

More than a century after the first description of columnar-lined oesophagus (CLE),¹ and more than 5 decades after early discussion on its nature,²⁻⁴ the definition of the entity known as Barrett's oesophagus (BE) has not yet met a consensus.

Barrett's oesophagus diagnosis is based on the endoscopic recognition of a red/pink gastric-like mucosa lining the tubular oesophagus above the oesophagogastric junction, which in the western world is defined as the proximal margins of the gastric folds.^{5, 6} From the histological viewpoint, BE includes a combination of three types of columnar epithelia described by Paul⁷ as junctional-type, gastric-fundic-type, and specialised columnar epithelium, and recently renamed by Chandrasoma as cardiac-type, oxyntocardiac and intestinal.⁸ The former two epithelia types are virtually indistinguishable from epithelia normally found in the stomach. The evidence of oesophageal adenocarcinoma being associated with the presence of intestinal metaplasia (IM) led to the conclusion that goblet cells are simultaneously the diagnostic marker and the risk marker of BE.⁹

This concept has been incorporated in the American College of Gastroenterology guidelines¹⁰ that define BE as a change in the distal oesophageal epithelium of any length that can be recognised as columnar-type mucosa on endoscopy and is confirmed to have IM by biopsy of the tubular oesophagus. However, the British Society of Gastroenterology¹¹ states that to make a positive diagnosis of BE, it is sufficient that a segment of columnar metaplasia of any length is visible endoscopically above the oesophagogastric junction and can be confirmed or corroborated histologically.

The likelihood of detecting IM decreases with shorter segments of columnar-lined mucosa^{12, 13} and with smaller numbers of biopsy samples,¹⁴ implying that the absence of IM may indicate no more than a sampling error. IM is eventually detected if a sufficient number of biopsy specimens are obtained over an adequate time-scale.¹⁵ These arguments support the British viewpoint that the demonstration of columnar epithelium in an appropriate endoscopic setting is sufficient for the diagnosis of BE.¹¹ However, oesophageal adenocarcinomas very often coexist with IM,^{16, 17} and IM is the sole type of oesophageal lining that clearly predisposes to malignancy^{18, 19}; these findings support the concept of IM as a cancer risk marker. Moreover, the diagnosis of BE has a negative impact on individual conditions of health and life insurance policies.²⁰ Therefore, American guidelines state the need for evidence of IM (goblet cells) before recommendation of surveillance.^{10, 20, 21}

Metaplastic nongoblet columnar epithelium in the oesophagus has intestinal differentiation and molecular abnormalities,^{22, 23} and there is a close relationship between oesophageal adenocarcinoma and cardiac-type mucosa.²⁴ Liu *et al.*²⁵ reported that oesophageal columnar epithelium with and without goblet cells shows similar DNA abnormalities. Recently, Riddel and Odze²⁶ argued that guidelines for the diagnosis of BE should be revised considering new data on nongoblet columnar epithelium of the oesophagus.

The question of whether CLE with and without IM represent two distinct or related entities remains unanswered. The different associations with adenocarcinoma and recommendations for endoscopic surveillance²⁷ favour the first hypothesis, but data from patients who have undergone oesophagectomy suggests that CLE without IM can be an intermediate step between oesophageal squamous lining and BE.²⁸⁻³⁰

Information on the natural history of CLE without IM is scarce. IM is infrequently found in paediatric CLE, but follow-up data is limited.³¹ IM was reported in CLE in oesophageal remnants, but was infrequent and a late event.^{28, 30} To the best of our knowledge, there is only one report on the follow-up of patients with CLE without IM.³²

The principal aim of this study was to evaluate the natural history of CLE without IM of 2 or more cm in length. The secondary aims were to evaluate the prevalence and demographic and clinical features of this condition in the setting of a BE surveillance program.

PATIENTS AND METHODS

The BE surveillance program of the Instituto Português de Oncologia de Lisboa started in 1992 after approval by the medical board of the institution. The condition for referral was the endoscopic diagnosis of CLE of any length. An initial index endoscopy with biopsies according to the Seattle protocol was performed, beginning just above the oesophagogastric junction and ending just below the squamous-columnar junction (Z-line). The minimum number of biopsy samples in circular and noncircular segments was eight and five, respectively.

Biopsy specimens were stained with haematoxylin-eosin, and the presence of the following types of epithelia was searched for: gastric atrophic-fundic or oxyntocardiac-type mucosa, junctional or cardiac-type mucosa, and specialised columnar mucosa or IM.^{7, 8} The presence of a well-defined single goblet cell was sufficient for the diagnosis of IM.

Endoscopic surveillance was recommended for patients with BE (evidence of IM in biopsies). When IM was not documented in the first two consecutive endoscopies in patients with CLE ≥ 2 cm, periodic endoscopic follow-up was suggested. These patients were followed up until the histological demonstration of IM, at which time they entered our surveillance protocol. Patients with CLE < 2 cm and no IM documented in two consecutive endoscopies were discharged with no further follow-up.

For the purpose of this study, which was approved by the Investigation and Ethic Committees in July 2011, patients fulfilling the following criteria were selected:

- (i) Endoscopic diagnosis of CLE ≥ 2 cm.
- (ii) Absence of IM in the index endoscopy and in a second endoscopy performed at least 1 year later. Goblet cells were actively looked for and the identification of a single one was an exclusion criterion.

The following variables were analysed in the study population: gender, age at diagnosis of CLE, CLE length and symptoms that led to the first upper GI endoscopy, onset of reflux symptoms and treatment. On the basis of the initial and more recent endoscopic reports, CLE was classified according to Prague's classification.³³ Demographic, clinical and endoscopic features were compared with those of a cohort of BE patients (IM in at least one of the first two endoscopies) enrolled in our surveillance program up to the end of 2009.

Biopsy samples from the first endoscopy were immunohistochemically evaluated for the presence and cellular localization of intestinal markers as well as for the expression of cytokeratin 7 and cytokeratin 20. Intestinal features were assessed using monoclonal antibodies against the enterocytic enzymes villin and sucrase-isomaltase and were considered positive whenever immunostaining was observed at the apical border of columnar cells. Immunoexpression of cytokeratin 7 and cytokeratin 20 was classified as Barrett's and nonBarrett type, according to Ormsby *et al.*³⁴ Villin, sucrase-isomaltase and cytokeratin 7/20 immunoexpression was reevaluated whenever IM was documented or at the last performed endoscopy.

The same endoscopist (ADP) performed all the endoscopies; an experienced GI pathologist (PC) reevaluated all biopsy samples before the manuscript was drafted.

Statistical analysis was performed using PAWS Statistics 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). For continuous variables, the nonparametric Mann-Whitney test was used due to the small size of the study group, even if

variables had a normal distribution. For dichotomous variables, the Fisher's exact test was used, as expected frequencies of less than 5 were observed in all cases. For age distribution within both cohorts, an adjusted residual analysis was performed to complement the analysis of column percentages and chi-squared tests. Differences were considered statistically significant when the *P*-value was < 0.05 .

RESULTS

Fifteen patients met the inclusion criteria. Demographic, clinical and endoscopic data are summarised in Table 1. There were 11 male patients and 4 female patients, with a mean age of 27.8 years (range, 15–55 years) at the time of CLE diagnosis. Thirteen patients (84.6%) had a history of heartburn. The other two (the youngest of this series) had a long-standing history of dysphagia related to peptic strictures that needed dilatation. All had endoscopic erosive oesophagitis at the index endoscopy.

The total length and the columnar-lined segment classification according to Prague's system are also described in Table 1. The mean length was 3.7 ± 2.2 cm, ranging from 2 to 10, with no difference between genders. All but three patients had circular segments that ranged from 2 to 10 cm, and all but four had long segments (length, ≥ 3 cm).

The patients' follow-up data are summarised in Table 1. IM was documented in 9 of the 15 patients (60%) after a mean follow-up of 7.1 years.

The demographic, clinical and endoscopic features of patients who both developed and did not develop IM during follow-up are summarised in Table 2. Patients who developed IM were younger at the time of diagnosis, had longer columnar-lined segments and follow-up times, and had undergone more upper GI endoscopies in comparison with those who did not, but these differences were not significant. To date, dysplasia and adenocarcinoma have not been documented in any patient in this series.

When only the 11 patients with long segments of CLE (length, ≥ 3 cm) were considered, IM occurred in eight (73%) patients after a mean follow-up of 8.1 ± 2.7 years, which is a significantly longer time than that of the three patients (3.3 ± 1.5 years) in whom IM was not observed ($P = 0.023$).

All the patients received medical antireflux treatment with proton pump inhibitors. Six patients had surgical antireflux procedures that were performed either before ($n = 5$, from 1 to 20 years) or after ($n = 1$) IM documentation.

Table 1 | Demographic, clinical, endoscopic and histological features of patients and follow-up data

Case Number	Age at diagnosis	Gender	Symptoms that led to endoscopy	CLES length	Prague's classification	Epithelia in 1st endoscopy	Follow-up (years)	IM During follow-up	Time to IM (years)	Number of endoscopies
1	16	Male	Dysphagia	7	C7M7	C;OC	20	Yes	10	6
2	21	Male	Heartburn	3	C2M3	C;OC	16	Yes	13	5
3	36	Male	Heartburn	2	C0M2	C;OC	12	No	–	5
4	15	Male	Dysphagia	10	C10M10	C:OC	9	Yes	7	6
5	23	Female	Heartburn	3	C3M3	C;OC	11	Yes	9	4
6	28	Male	Heartburn	3	C2M3	C;OC	13	Yes	5	4
7	49	Male	Heartburn	4	C3M4	C;OC	4	No	–	3
8	23	Male	Heartburn	5	C5M5	C;OC	10	Yes	7	5
9	34	Female	Heartburn	3	C2M3	C;OC	8	Yes	5	4
10	24	Male	Heartburn	3	C3M3	C;OC	3	No	–	3
11	24	Female	Heartburn	2	C2M2	C;OC	3	No	–	3
12	18	Male	Heartburn	3	C2M3	C;OC	5	No	–	5
13	55	Female	Heartburn	2	C0M2	C;OC	8	Yes	4	4
14	30	Male	Heartburn	3	C1M3	C;OC	9	No	9	4
15	33	Male	Heartburn	2	C0M2	C;OC	11	No	–	5

C, cardiac epithelium; OC, oxintocardiac epithelium; IM, intestinal metaplasia; (–), IM not observed.

Table 2 | Follow-up of patients with CLES without intestinal metaplasia

	Patients with IM in follow-up		Patients without IM in follow-up	
Number	9		6	
Gender	Male	Female	Male	Female
	6	3	5	1
Age at diagnosis	26.9 ± 12.9* (15–55)		30.6 ± 10.2* (18–49)	
Time of follow-up (years until IM or last endoscopy)	7.8 ± 3.3* (4–13)		5.8 ± 4.5* (3–12)	
Mean ± s.d.				
CLES length (cm)	4.5 ± 2.7* (2–10)		2.7 ± 0.8* (2–4)	
Number of endoscopies	4.8 ± 0.9* (4–6)		3.9 ± 1.1* (3–5)	

CLES, columnar-lined oesophagus segments; IM, intestinal metaplasia.

* ns.

The demographic, clinical and endoscopic data of patients with CLE without IM (*n* = 15) and with BE (*n* = 205) are summarised in Table 3. Gender distribution, heartburn prevalence, and CLE segment lengths were similar in both groups. However, patients with CLE without IM were significantly younger than those with BE (28 vs. 60 years; *P* < 0.001).

The age distribution of patients in both groups is summarised in Table 4. CLE without IM patients accounted for 48% of all CLE patients less than 40 years of age (*n* = 27), but for only 1% of those over that age (*n* = 193). Independence between these two variables (age and IM) could be ruled out (*P* < 0.001).

The percentage of patients in each cohort for the 5 age brackets considered is also summarised in Table 4. It was observed that 86.7% of CLE without IM patients belonged to the three youngest groups and, inversely, 93.2% of BE patients belonged to the two older groups. There was a statistically significant difference in the percentage of patients in both cohorts for all age brackets, except for patients aged between 40 and 49 years.

The immunoexpression results for villin, sucrase-isomaltase and cytokeratin 7/20 are summarised in Table 5. In the index endoscopy, there was apical immunoexpression of villin and a Barrett's pattern of cytokeratin 7/20 expression in all 15 patients, with no

Table 3 | Demographic, clinical and endoscopic features of patients with CLES without intestinal metaplasia and with Barrett's oesophagus

	CLES without IM		Barrett's oesophagus	
	Male	Female	Male	Female
Number	15		205	
Gender	11	4	151	54
Male: Female ratio	2.8:1		2.8:1	
Age at diagnosis	28.6 ± 11.5* (15–55)		60 ± 14.4* (21–84)	
Heartburn	84.4%**		87.6%**	
CLES length (cm)	3.7 ± 2.2** (2–10)		3.5 ± 2.5** (1–20)	

CLES, columnar-lined oesophagus segments; IM, intestinal metaplasia.

* $P < 0.0001$.

** ns.

sucrase-isomaltase immunoexpression in any case. The development of IM was accompanied by apical expression of sucrase-isomaltase with no alteration in expression of villin and cytokeratin 7/20.

DISCUSSION

In the present study, we report a cohort of patients with CLE without IM that was prospectively followed up for the development of IM. A cohort of patients with BE (CLE with IM) was used as a control. The two cohorts had similar gender distribution, reflux-related symptom prevalence and columnar-lined segment lengths; however, a difference was observed in terms of age, with patients without IM being significantly younger. IM was documented in 60% of the study cohort after a mean follow-up of 7 years.

It is not possible to exclude the presence of goblet cells in a CLE with absolute confidence. As the presence of a single goblet cell in the appropriate endoscopic setting is sufficient for the diagnosis of BE,⁹ the possibility of sampling error can never be completely excluded. For the purposes of this study, the criteria used to define a CLE without IM were established to minimise the probability of sampling error. The likelihood of finding IM in CLE has been shown to correlate with gender, metaplastic segment length, time elapsed since diagnosis and number and location of biopsy specimens obtained.^{13–15, 26, 35}

The probability of finding IM in columnar-lined segments less than 1 cm in length is very low.^{13, 36} According to Chandrasoma,¹³ this probability increases with segment length, being 75% in metaplastic segments of 1–2 cm and 90% in segments of 3–4 cm. Therefore, we decided to only include patients with CLE ≥ 2 cm to minimise the probability of not finding IM and to avoid an over-diagnosis of CLE, specifically in patients with hiatal hernia¹¹ and severe atrophic gastritis.³⁷ Furthermore, the diagnostic concordance is low in short segments of BE that are ≤ 1 cm.^{33, 37}

Harrison *et al.*¹⁴ recommend a minimum of eight random biopsies at the index endoscopy to confidently exclude IM. It was also shown that in BE, goblet cells occur preferentially in the proximal oesophagus, near to the neo-squamous columnar junction, when compared with the distal oesophagus (94% vs. 39% of biopsy samples).³⁸ In our practice, we perform biopsies for BE diagnosis and surveillance according to the Seattle protocol. Thus, except for the three patients with noncircular CLE (COM2 according to Prague's classification), in whom at least five biopsy samples were obtained, a minimum of eight samples were obtained in all patients, always including four fragments obtained just below the Z-line.

Table 4 | Age distribution of patients with CLES without intestinal metaplasia and with Barrett's oesophagus at the time of diagnosis

Age (years)	CLES without IM * (n)	Barrett's oesophagus* (n)	% within CLES without IM	% within Barrett' oesophagus	Adjusted residuals (module)
0–19	3	0	20	0	6.4**
20–29	6	2	40	1	7.8**
30–39	4	12	26.7	5.9	3.0**
40–49	1	35	6.7	17.1	1.1
>50	1	156	6.7	76.1	5.7**

CLES, columnar-lined oesophagus; IM, intestinal metaplasia.

* $P = 0.00$; Fisher's exact test.

** Differences between percentages in the two cohorts are significant at $P < 0.05$; adjusted residual analysis.

Table 5 | Villin, sucrase-isomaltase and CK7/CK20 immunoeexpression

	Villin (+)	Sucrase-isomaltase (+)	CK7/CK20 Barrett pattern
Index endoscopy (15)	15/15	0/15	15/15
After IM development (n = 9)	9/9	9/9	9/9
No IM in follow-up (n = 6)	6/6	0/6	6/6

CK7, cytokeratin 7; CK20, cytokeratin 20; IM, intestinal metaplasia.
(+) Positivity.

Therefore, the length criteria used for inclusion and the strict biopsy protocol that was systematically followed allowed us to affirm that sampling error was minimised as far as possible in this cohort of patients with CLE without IM.

The significantly lower age of the cohort with CLE without IM compared with that of BE patients and the fact that in 60% of these patients, IM was documented during follow-up support the hypothesis that goblet cells are not an early event in BE pathogenesis.

To the best of our knowledge, there are few studies dealing with the follow-up of CLE without IM. Oberg and colleagues,³² using diagnostic criteria similar to ours, were able to find IM in the index endoscopy in only 52% of 177 patients with CLE ranging from 1 to more than 6 cm in length, a number that increased to 61% after the second endoscopy. Therefore, the prevalence of CLE without IM after two endoscopies was 39% (69/177), a figure six times higher than that found in this study (6.8%). This difference cannot be explained by the biopsy or histological protocols followed, as both studies used the same methodology. Although Oberg *et al.*³² did not analyse their data in this manner, if patients with CLE ≤ 2 cm were excluded, the prevalence of CLE without IM would decrease to approximately 16%.

Gattenby and coworkers¹⁵ reported the development of IM in 322 patients (about a third of a cohort of CLE patients) with IM-negative oesophageal biopsy specimens in the index endoscopy. They observed that the prevalence of IM increased from 22.6% to 90.8% during a 10-year follow-up. Male gender, segment length, and number of samples collected correlated with IM. They concluded that detection of IM is subject to significant

sampling error. This was a multi-centric retrospective study, with nonstandardized and highly variable biopsy and histological protocols and no centralised verification of histopathological or endoscopic findings.

Contrary to our findings, in Oberg's report,³² patients with and without IM did not differ with respect to age. Once more, the different inclusion criteria used in this study may explain these different findings. IM was documented in about 50% of the patients in Oberg's cohort after a median follow-up time of 7 years,³² and IM incidence was shown to be significantly lower in patients who underwent an antireflux surgical procedure in comparison with those who received medical treatment. Although the IM documentation rate was similar in our study, the protective effect of anti-reflux surgery was not observed.

Two conditions, namely, BE in paediatric age and BE development after oesophagectomy, are consistent with the hypothesis that the pathogenesis of BE involves the time-dependent development of nonintestinalised columnar epithelium into an intestinalised mucosa.³⁹ The first evidence came from the follow-up of 28 paediatric and 38 adult patients with CLE reported by Qualman *et al.*⁴⁰; they found a significantly higher prevalence of IM and goblet cell density in adult patients. BE has a low prevalence in children,⁴¹ with a reported IM prevalence that does not exceed 53%.^{42, 43} Moreover, IM has never been observed in patients under 5 years.³¹ There is little information on the follow-up of children with CLE without goblet cells, but two cases remaining free of IM for more than 10 years were reported.³¹

The occurrence of CLE in the remnant oesophagus after oesophagectomy with pull-up gastric reconstruction has been described.^{30, 44, 45} In our experience, CLE is an early event, but IM was documented in only one patient after 10 years.³⁰ CLE was seen to develop in 10 of 17 patients as early as 2 months after oesophagectomy, but only two patients developed IM late during the follow-up.⁴⁴

There is very limited information on the risk of neoplastic progression in IM-negative CLE.⁴⁶ No differences were observed in the rate of development of dysplasia and/or adenocarcinoma between patients with (n = 612) and without (n = 322) IM in the index endoscopy after a mean follow-up of 3.5 years.⁴⁷ There were no cases of dysplasia in our cohort, even in those patients who developed IM. However, the small size of the cohort and the limited follow-up (accounting for a total of 142 patient-years) would make the observation of dysplasia unlikely, even if the same risk of high-

grade dysplasia/cancer in BE was accepted for CLE without IM.

There is evidence that BE expresses the intestinal-specific enzyme sucrase-isomaltase⁴⁸ and the cytoskeletal protein villin^{49, 50} and that cardiac-type mucosa can also express villin.^{51, 52} Our group has shown that sucrase-isomaltase apical staining is associated with the presence of IM.⁴⁷ Ormsby described a sensitive and specific pattern of cytokeratin 7/20 expression in long segments of BE³⁴; this pattern was similar to that observed in cardiac-type mucosa.⁵³ The similarities in villin expression and cytokeratin 7/20 pattern in the current cohort to those described in BE, and the similar expression of villin and cytokeratin 7/20 both before and after detection of IM in the nine patients in whom it was observed support the concept that cryptic intestinal features are present in cardiac-type mucosa a long time before the detection of goblet cells. The distinct apical expression of sucrase-isomaltase observed before and after detection of goblet cells is another argument against the possibility of

sampling error as the reason for nondetection of IM in index endoscopies.

The relatively small size of the cohort is undoubtedly a weakness of this study, but only a multi-centric study will be able to overcome this problem. The strengths of this study are as follows: strictly defined inclusion criteria, which allowed a high uniformity among the patients studied; performance of all endoscopies by the same experienced endoscopist; review of all histological slides by an experienced GI pathologist; and the long follow-up period.

In conclusion, CLE without IM ≥ 2 cm in length is infrequent in the setting of a systematic biopsy protocol and may represent an intermediate step between squamous and intestinal oesophageal lining. As the majority of patients will develop IM over time, they cannot be considered as having no increased risk of oesophageal adenocarcinoma.

ACKNOWLEDGEMENT

Declaration of personal and funding interests: None.

REFERENCES

1. Tileston W. Pepticulcer of the esophagus. *A J Med Sci* 1906; **5**: 725–30.
2. Barrett N. Chronic pepticulcer of the oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg* 1950; **38**: 175–82.
3. Allison PR, Johnstone AS. The esophagus lined with gastric mucous membrane. *Thorax* 1953; **8**: 87–101.
4. Barrett N. The lower esophagus lined by columnar epithelium. *Surgery* 1957; **41**: 881–94.
5. McClave SA, Boyce HW Jr, Gottfried MR. Early diagnosis of columnar-lined esophagus: a new endoscopic diagnostic criterion. *Gastrointest Endosc* 1987; **33**: 413–6.
6. Amano Y, Ishimura N, Furuta K, *et al.* Which landmarks results in a more consistent diagnosis of Barrett's esophagus, the gastric folds or the palisade vessels? *Gastrointest Endosc* 2006; **64**: 206–11.
7. Paull A, Trier JS, Dalton MD, Camp RC, Loeb P, Goyal RK. The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 1976; **295**: 476–80.
8. Chandrasoma P, Der R, Ma Y, Dalton P, Taira M. Histology of the gastroesophageal junction. *Am J Surg Pathol* 2000; **24**: 402–9.
9. Weinstein WM, Ippoliti AF. The diagnosis of Barrett's esophagus: goblets, goblets, goblets. *Gastrointest Endosc* 1996; **44**: 91–5.
10. Wang KK, Sampliner RE and the Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2008; **103**: 788–97
11. Society BG. Guidelines for the diagnosis and management of Barrett's columnar-lined oesophagus. In: *Gastroenterology* BSo, ed. 2005. Available at: <http://www.bsg.org.uk>. Accessed February 22, 2012.
12. Oberg S, DeMeester TR, Peters JH, *et al.* The extent of Barrett's esophagus depends on the status of the lower esophageal sphincter and the degree of esophageal acid exposure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1999; **117**: 572–80.
13. Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, Peters J, Demeester T. Histologic classification of patients based on mapping biopsies of the gastroesophageal junction. *Am J Surg Pathol* 2003; **27**: 929–36.
14. Harrison R, Perry I, Haddadin W, *et al.* Detection of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus: an observational comparator study suggests the need for a minimum of eight biopsies. *Am J Gastroenterol* 2007; **102**: 1052–61.
15. Gatenby Piers AC, Ramus JR, Caygill CPJ, Shepherd NA, Watson A. Relevance of the detection of intestinal metaplasia in non-dysplastic columnar-lined esophagus. *Scand J Gastroent* 2008; **43**: 524–30.
16. van Sandick JW, Baak JP, van Lanschot JJ, *et al.* Computerized quantitative pathology for the grading of dysplasia in surveillance biopsies of Barrett's esophagus. *J Pathol* 2000; **190**: 177–83.
17. Cameron AJ, Souto EO, Smyrk TC. Small adenocarcinomas of the esophagogastric junction: association with intestinal metaplasia and dysplasia. *Am J Gastroenterol* 2002; **97**: 1375–80.
18. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, Inadomi JM, Shaheen NJ. American gastroenterological association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011; **140**: 1084–91.
19. Chandrasoma P, Wijetunge S, DeMeester S, *et al.* Columnar-lined esophagus without intestinal metaplasia has no proven risk of adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2012; **36**: 1–7.
20. Shaheen NJ, Dulai GS, Ascher B, Mitchell KL, Schmitz SM. Effect of a new diagnosis of Barrett's esophagus on insurance status. *Am J Gastroenterol* 2005; **100**: 577–80.
21. Sharma P, McQuaid K, Dent J, *et al.* A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus: the

- AGA Chicago workshop. *Gastroenterology* 2004; **127**: 310–30.
22. Hahn HP, Blount PL, Kamrun A, *et al.* Intestinal differentiation in metaplastic, nongoblet columnar epithelium in the esophagus. *Am J Surg Pathol* 2009; **33**: 1006–15.
 23. Chaves P, Crespo M, Ribeiro C, *et al.* Chromosomal analysis of Barrett's cells: demonstration of instability and detection of the metaplastic lineage involved. *Mod Pathol* 2007; **20**: 788–96.
 24. Takubo K, Aida J, Naomoto Y, *et al.* Cardiac rather than intestinal-type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2009; **40**: 65–74.
 25. Liu W, Hanh H, Odze RD, Goyal K. Metaplastic columnar epithelium without goblet cells shows DNA content abnormalities similar to goblet cell-containing epithelium. *Am J Gastroenterol* 2009; **104**: 816–24.
 26. Riddell HR, Odze RD. Definition of Barrett's esophagus: time for a rethink – is intestinal metaplasia dead? *Am J Gastroenterol* 2009; **104**: 2588–94.
 27. Spechler SJ, Goyal RK. The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia and Norman Barrett. *Gastroenterology* 1996; **110**: 614–21.
 28. Peitz U, Vieth M, Pross M, Leodolter A, Malfertheiner P. Cardia-type metaplasia arising in the remnant esophagus after cardia resection. *Gastrointest Endosc* 2004; **59**: 810–7.
 29. Lord RGV, Wickramasinghe K, Johansson J, Demeester SR, Brabender J, Demeester TR. Cardiac mucosa in the remnant esophagus after esophagectomy is an acquired epithelium with Barrett's-like features. *Surgery* 2004; **136**: 633–40.
 30. Chaves P, Pereira AD, Cruz C, *et al.* Recurrent columnar-lined esophageal segments – study of the phenotypic characteristics using intestinal markers. *Dis Esophagus* 2002; **15**: 282–6.
 31. Hassall E. Cardia-type mucosa as an esophageal metaplastic condition in children: Barrett's esophagus, intestinal metaplasia-negative. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; **47**: 102–6.
 32. Oberg S, Johansson J, Wenner J, *et al.* Endoscopic surveillance of columnar-lined esophagus: frequency of intestinal metaplasia detection and impact of antireflux surgery. *Ann Surg* 2001; **234**: 619–26.
 33. Sharma P, Dent J, Armstrong D, *et al.* The development and validation of an endoscopic grading system for Barrett's esophagus: the Prague C & M criteria. *Gastroenterology* 2006; **131**: 1392–9.
 34. Ormsby AH, Goldblum JR, Rice TW, *et al.* Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. *Hum Pathol* 1999; **30**: 288–94.
 35. Goldblum JR. Controversies in the diagnosis of Barrett's esophagus and Barrett-related dysplasia. One pathologist's perspective. *Arch Pathol Lab Med* 2010; **134**: 1479–84.
 36. Pereira AD, Suspiro A, Chaves P, *et al.* Short segments of Barrett's epithelium and intestinal metaplasia in normal appearing oesophago-gastric junctions: the same or two different entities? *Gut* 1998; **42**: 659–62.
 37. Ishimura N, Amano Y, Kinoshita Y. Endoscopic definition of esophago-gastric junction for diagnosis of Barrett's esophagus: importance of systematic education and training. *Dig Endosc* 2009; **21**: 213–8.
 38. Chandrasoma PT, Der T, Dalton P, *et al.* Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus. *Am J Surg Pathol* 2001; **25**: 1188–93.
 39. DeMeester SR, DeMeester TR. Columnar mucosa and intestinal metaplasia of the esophagus. fifty years of controversy. *Ann Surg* 2000; **231**: 303–21.
 40. Qualman SJ, Murray RD, McClung HJ, Lucas J. Intestinal metaplasia is age related in Barrett's esophagus. *Arch Pathol Lab Med* 1990; **114**: 1236–40.
 41. Jeurnink SM, van Herwaarden-Lindeboom MY, Siersema PD, Fischer K, Houwen RH, van der Zee DC. Barrett's esophagus in children: does it need more attention? *Dig Liver Dis* 2011; **43**: 682–7.
 42. Hassall E. Columnar-lined esophagus in children. *Gastroenterol Clin North Am* 1997; **26**: 533–48.
 43. El-Serag HB, Gilger MA, Shub MD, Richardson P, Bancroft J. The prevalence of suspected Barrett's esophagus in children and adolescents: a multicenter endoscopic study. *Gastrointest Endosc* 2006; **61**: 671–5.
 44. Hamilton SR, Yardley JH. Regeneration of cardiac-type mucosa and acquisition of Barrett mucosa after esophagogastrectomy. *Gastroenterology* 1977; **72**: 669–75.
 45. Franchimont D, Covas A, Brasseur C, Laerhem JL, El-Nakadi I, Devière J. Newly developed Barrett's esophagus after subtotal esophagectomy. *Endoscopy* 2003; **35**: 850–3.
 46. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006; **101**: 1900–20.
 47. Kelty CJ, Gough MD, Van Wik Q, Stephenson TJ, Ackroyd R. Barrett's oesophagus: intestinal metaplasia is not essential for cancer risk. *Scand J Gastroenterol* 2007; **42**: 1271–74.
 48. Wu GD, Beer DG, Moore JH, Orringer MB, Appelman HD, Traber PG. Sucrase-isomaltase gene expression in Barrett's esophagus and adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1993; **105**: 837–44.
 49. Regalado SP, Nambu Y, Iannettoni MD, Orringer MB, Beer DG. Abundant expression of the intestinal protein villin in Barrett's metaplasia and esophageal adenocarcinomas. *Mol Carcinog* 1998; **22**: 182–9.
 50. Shi XY, MD, Bhagwandeem B, Leong ASY. CDX2 and villin are useful markers of intestinal metaplasia in the diagnosis of Barrett's esophagus. *Am J Clin Pathol* 2008; **129**: 571–7.
 51. Kerkhof M, Bax DA, Moons LMG, *et al.* Does CDX2 expression predict Barrett's metaplasia in oesophageal columnar epithelium without goblet cells? *Aliment Pharmacol Ther* 2006; **24**: 1613–21.
 52. Chaves P, Soares J. What is the value of the sucrase-isomaltase expression in detecting dysplastic changes in Barrett's esophagus? In: Giuli R, Siwert JR, Couturier D, Scarpignato C eds. *Barrett's Esophagus*. Paris, France: John Libbey Eurotex, 2003, 308–12.
 53. DeMeester SR, Wickramasinghe KS, Lord RVN, *et al.* Cytokeratin and DAS-1 immunostaining reveal similarities among cardiac mucosa, CIM, and Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2002; **97**: 2514–23.

6.4. Long segments of columnar-lined lower esophagus are not always metaplastic

CASE REPORTS

Long segments of columnar-lined lower esophagus are not always metaplastic

Antonio Dias-Pereira^{1,2}, Tito Correia³, Pedro Amaro³, Carlos Sofia³ and Paula Chaves^{2,4}

¹Serviço de Gastrenterologia., Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil. EPE. Lisboa, Portugal. ²Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade da Beira Interior. Covilhã, Portugal. ³Serviço de Gastrenterologia. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Coimbra, Portugal. ⁴Serviço de Anatomia Patológica. Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil. EPE. Lisboa, Portugal

ABSTRACT

The presence of columnar epithelium in the esophagus is associated with two conditions: Barrett's esophagus and heterotopic gastric mucosa. The former results from the metaplastic replacement of the normal distal squamous esophageal lining, is associated with gastroesophageal reflux and is a pre-neoplastic condition. The second is thought as a congenital condition, resulting from the incomplete squamous epithelialization of the esophagus during embryologic development. It is found mainly in the cervical esophagus. Histologically, Barrett's esophagus is composed of an admixture of cardiac mucosa, oxyntocardiac mucosa and intestinal metaplasia. Most of heterotopic gastric mucosa consists of oxyntic mucosa where the mucosal glands are straight and composed of parietal and chief cells.

There are few reports of heterotopic gastric mucosa in the lower esophagus, generally presenting as small islands.

In the present report, a series of four cases of large lower esophageal heterotopic gastric mucosa is described. All patients were initially misdiagnosed with Barrett's esophagus and referred for surveillance. The correct diagnosis was based in endoscopic and histological features. In all, a circular tiny strip of squamous mucosa was observed at endoscopy between the lower end of the columnar-lined esophagus and the esophagogastric junction, defined as the proximal end of the gastric folds. Biopsy samples taken from the columnar-lined segments of the four patients showed pure oxyntic mucosa.

When columnar-lined esophagus is observed in the distal esophagus not in continuity with gastric mucosa, the diagnosis of heterotopic gastric mucosa must be thought and confirmed histologically by the presence of pure oxyntic mucosa.

Key words: Columnar-lined esophagus. Heterotopic gastric mucosa. Barrett's esophagus.

INTRODUCTION

The presence of columnar epithelium in the esophagus, which is normally lined with squamous mucosa, is

associated with two conditions. The first condition is the metaplastic replacement of the squamous epithelium of the lower esophagus associated with gastroesophageal reflux. It occurs mainly in men, is endoscopically characterized by the proximal displacement of the Z-line, and is histologically characterized by an admixture of three columnar epithelia (cardiac, oxyntocardiac, and intestinal metaplasia). This condition is known by the eponym Barrett's esophagus (1) and has a well-known association with esophageal adenocarcinoma, the malignancy with the highest rising incidence in the last four decades in Western countries (2).

The second condition is heterotopic gastric mucosa (HGM) more frequently associated with the cervical esophagus (3). Its appearance varies from tiny microscopic foci to large areas of red or salmon-red mucosa. HGM that presents as large patches is also called inlet patch. The most common location of HGM is the uppermost portion of the esophagus just below the upper esophageal sphincter. HGM is thought to have a congenital origin resulting from the incomplete squamous epithelialization of the esophagus during embryologic development (4,5). Histologically, most HGM cases consist of oxyntic mucosa with mucus-secreting columnar cells, chief cells, and parietal cells (4,6). Although a recent published review found 44 cases of adenocarcinoma arising in HGM (7), it is not considered a pre-malignant condition.

Patients diagnosed with HGM, as opposed to Barrett's esophagus, are not considered to have an increased risk of esophageal cancer and have no indication for endoscopic surveillance. The correct diagnosis of HGM allows to exclude them from unnecessary endoscopic surveillance and to diminish the psychological stress known to be associated with the diagnosis of Barrett's esophagus (8).

HGM has been seldom described in the middle portion of the esophagus. Reports of its occurrence in the lower esophagus are uncommon and always describe HGM as small islands (6). Chandrasoma (9) recently stated that it

Received: 28-12-2014

Accepted: 11-01-2015

Correspondence: Antonio Dias Pereira. Serviço de Gastrenterologia. Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE. Rua Professor Lima Basto. 1099-023 Lisboa, Portugal
e-mail: adiaspereira1@gmail.com

Dias-Pereira A, Correia T, Amaro P, Sofia C, Chaves P. Long segments of columnar-lined lower esophagus are not always metaplastic. *Rev Esp Enferm Dig* 2015;107:444-448.

is hard to find in the literature any significant reference to “islets of gastric mucosa in the lower esophagus” after 1950 Barrett’s paper on *Chronic ulcer of the esophagus and “esophagitis”* (10). In this paper, we report four cases of large segments (≥ 5 cm long) of columnar-lined mucosa in the lower esophagus referred for surveillance with the diagnosis of Barrett’s esophagus but with an endoscopic appearance suggestive of HGM that was confirmed histologically, identified in the endoscopic datafiles of two tertiary Gastroenterology Departments (Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil and Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra).

This study was approved by the Instituto Português de Oncologia de Lisboa review board.

CASE REPORT

The features of the four patients are summarized in table I. Three were referred to a Barrett’s esophagus surveillance program after diagnosis of Barrett’s esophagus by upper gastrointestinal endoscopies that were performed for complaints of long-standing heartburn; the other patient was referred to a tertiary hospital when she returned from abroad with the diagnosis of Barrett’s esophagus. Cases 1 and 2 were referred shortly after diagnosis, and HGM was suspected at the initial endoscopy performed at our institu-

tion. Case 3 was diagnosed with Barrett’s esophagus without intestinal metaplasia since 2004 to 2012 and submitted to several surveillance endoscopies. During these eight years she took regularly PPI. In 2012 she was referred to our program, and the diagnosis of HGM was thought in the first endoscopy. Case 4 was diagnosed abroad with Barrett’s esophagus and was subjected to an antireflux surgical procedure in 2006 shortly after diagnosis with no regression of heartburn. Shortly after surgery, the patient required the reintroduction of proton pump inhibitors. When she returned to Portugal, she was referred to a tertiary hospital where HGM was suspected at endoscopy and then confirmed by histology.

All four patients required proton pump inhibitors daily for heartburn control. All attempts to stop medication were shortly followed by heartburn complaints.

The endoscopic diagnosis of HGM of the lower esophagus was based on two features. First, a segment of grayish white mucosa was observed in all patients between the lowest limit of the columnar-lined mucosa and the esophagogastric junction defined as the proximal end of the gastric folds. Two Z-lines resulting from the more proximal transition from squamous to columnar esophageal mucosa and from a second, more distal transition, from squamous esophageal to columnar gastric mucosa were clearly observed in all cases. Second, the transition between the two mucosa was clearly demarcated, as the squamous edge

Table I. Demographic, clinical, endoscopic, and histological data of the four patients with heterotopic gastric mucosa

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Age at diagnosis of CLE	23	30	32	30
Gender	Female	Female	Female	Female
Complaints	Heartburn	Heartburn	Heartburn	Heartburn
Duration of complaints until CLE diagnosis (months)	6	6	24	48
Proximal limit CLE (cm from incisors)	30	28	29	29
Distal limit of CLE (cm from incisors)	35	35	34	37
Esophagogastric junction (cm from incisors)*	38	37	37	39
Endoscopic esophagitis** (LA classification)	Grade A	Grade B	Grade A	Grade B
CLE morphology	Almost circular	Circular	Non-circular (3/4 of the circumference)	Circular
Histology of CLE	Oxyntic mucosa	Oxyntic mucosa	Oxyntic mucosa	Oxyntic mucosa
Histology of mucosa below CLE	Squamous	Squamous	Squamous	Squamous
<i>Helicobacter pylori</i>	Positive	Negative	Negative	Negative
Time elapsed since diagnosis of CLE (years)	15	10	9	9

CLE: Columnar-lined esophagus; LA: Los Angeles. *Defined as the proximal limit of the gastric folds. **Maximum grade observed.

was slightly elevated compared to the columnar edge. No change in HGM morphology was observed since the correct diagnosis was established.

Endoscopic images of cases 1, 2, 3, and 4 are reproduced in figure 1.

Multiple biopsies (ranging from eight to twelve) were performed in the four patients. Biopsies were taken along the columnar-lined segment including their most proximal and distal ends. The histological features of all the biopsy samples that showed pure oxyntic mucosa confirmed HGM. In case 1, the pathologist also identified oxyntocardiac areas. The histological features of HGM are documented in figure 2 (corresponding to case 3). Biopsies taken from de grayish mucosa interposed between esophageal and gastric columnar mucosa showed squamous epithelium in all cases.

DISCUSSION

First recognized in the 19th century, HGM occurs mainly in the esophagus but has been described in other locations such as the small intestine, rectum, and gallbladder. In the esophagus, it is mainly located in the cervical segment just below the upper esophageal sphincter, an area not easily accessed by endoscopy. In a recently published series,

HGM was located 15-23 cm from the incisors in 96.8% of the 126 cases (11). This may influence its highly variable prevalence reported in endoscopic papers (0.1-10%), and evidence suggests that this entity is underestimated in the clinical setting (12). There is no difference in the prevalence of HGM between sexes. HGM diameter may range from a few millimeters to > 3 cm. There are reports of cases in which the HGM encircled the entire esophageal lumen (13). Virtual pan-esophageal involvement was reported in 1 case with HGM involving one-third to one-half of the esophageal circumference and extending to > 50% of the esophageal length starting 2 cm below the upper esophageal sphincter (14).

There is also evidence that HGM is an inherited condition that develops during fetal development (15). By gestation week 10, a single layer of columnar cells lines the esophagus. From gestation month 5, it is gradually replaced by squamous epithelium starting from the middle third of the esophagus and extending proximally and distally. The last esophageal segment re-epithelialized is the most proximal. HGM develops on incomplete re-epithelialization and persisting columnar cells at birth, usually proximally over the upper third of the esophagus or, much less frequently, distally over the esophagogastric junction. The preferential localization of HGM in the cervical esophagus is explained by the temporal difference in the stratified re-epithelialization of both ends of the esophagus (15).

A recent PubMed search combining the terms "heterotopic gastric mucosa," "inlet patch," "gastric heterotopy," or "gastric heterotopia" with "lower esophagus" or "distal esophagus" failed to return any articles. When the same terms were combined with "esophagus," the search returned 130 articles, only two of which referred to HGM occurrence in the lower esophagus (4,16). Borhan-Manesh et al reported on 64 cases of HGM in the upper esophagus

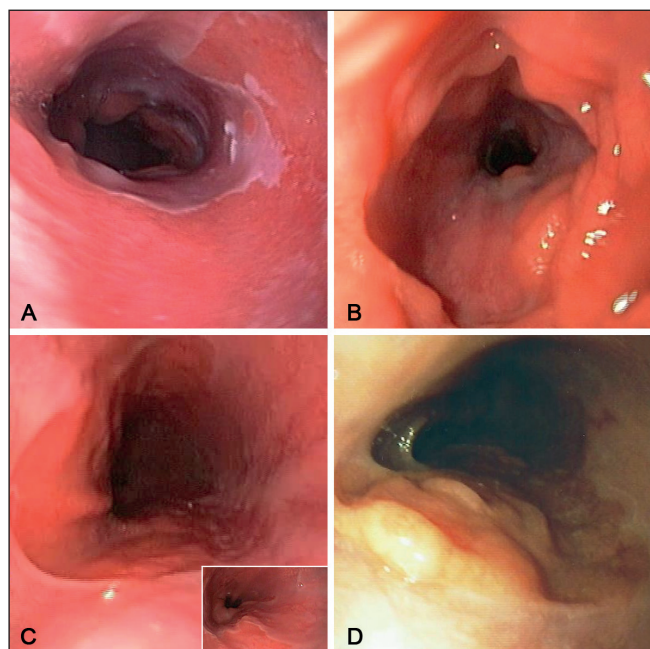


Fig. 1. Endoscopic images of HGM of the distal esophagus. A. An almost circular HGM with columnar mucosa clearly separated from the esophagogastric junction by a strip of squamous mucosa with 2-3 centimeters (case 1); B. A circular HGM separated from the esophagogastric junction by a thin circular strip of squamous mucosa (case 2). C. The slight elevated proximal and distal (right low corner) columnar-squamous transition of the HGM (case 3). D. Linear erosion is visible at 3 o'clock in the squamous mucosa above the proximal limit of the HGM (case 4).

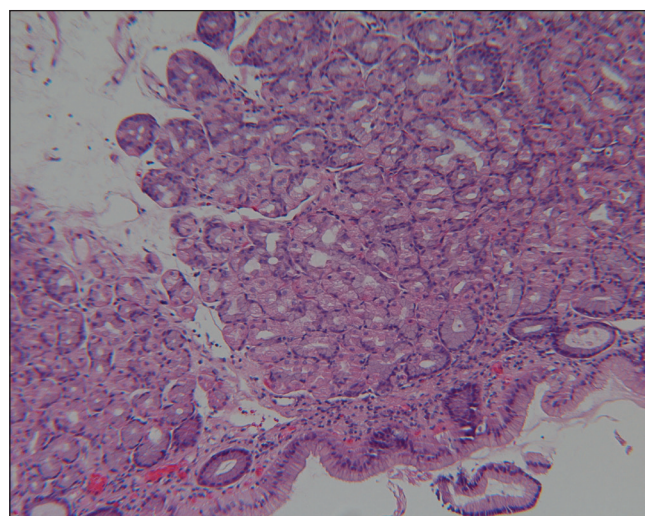


Fig. 2. Histology of HGM shows pure oxyntic mucosa characterized by the presence of glands with chief and parietal cells (slide from case 3).

in which occasional patches of HGM were found in the lower esophageal area 1-3 cm above the gastroesophageal junction with a histology similar to that of HGM in the cervical esophagus (4). Terada (16) reported a clinicopathological study of 910 consecutive esophageal biopsies with 98 gastric heterotopias occurring in all esophageal segments and described two types of gastric heterotopias: One with foveolar epithelium and oxyntic glands that he considered a congenital anomaly, and another consisting only of foveolar epithelium he considered a congenital anomaly or an acquired lesion.

In a literature review, von Rahden et al. (6) verified that most of the mucosa of HGM is uniformly the oxyntic type and is characterized by glands with chief and parietal cells. Less frequently, HGM shows a "transitional" cell type characterized by mucous glands without chief cells and with only a few parietal cells, called oxyntocardiac (17). There are scarce references of the presence of pure cardiac epithelium (18), and references of the presence of intestinal metaplasia are extremely rare (6).

The four cases reported in this paper presented with endoscopic features that strongly argued against the diagnosis of Barrett's esophagus. At endoscopy, a proximal displacement of the squamous-columnar junction or Z-line is observed in Barrett's esophagus in relation to the gastroesophageal junction. As such, columnar gastric mucosa is in continuity with metaplastic esophageal columnar epithelium. In all four cases in our series, there was a clear strip of circular grayish white (squamous) mucosa between the columnar-lined esophagus and the stomach that proved to be squamous histologically. The possibility that the observed endoscopic features were related to Barrett's regression secondary to PPI use must be discussed. There is published evidence that Barrett's esophagus can regress, even completely, under PPI use. However the complete circular distal squamous reepithelization of long segments of Barrett's esophagus has not been described in any of the published trials on the subject (19,20).

The endoscopic diagnosis of HGM was confirmed histologically in these four cases. Pure oxyntic mucosa, characterized by glands only with chief and parietal cells and devoid of mucous cells below the foveolar region, as shown here, is never observed in Barrett's esophagus. On the other hand, cardiac epithelium, which is composed of glands with mucous cells without parietal or chief cells and can be considered the hallmark of metaplastic columnar-lined esophagus (17), was not present in any biopsy sample taken from these four patients.

Most cases of HGM are found incidentally during endoscopy. However, in some patients, HGM is associated with symptoms such as heartburn and a globus sensation probably related to acid secretion by the heterotopic mucosa (6). Proton pump inhibitors are widely used to control the symptoms associated with HGM. All four patients reported in this paper had heartburn and endoscopic esophagitis in the squamous mucosa close to the proximal squamous-columnar

transition. It is not possible to rule out the presence of gastroesophageal reflux, but the very proximal location of the inflammatory changes strongly suggest they could be secondary to HGM-induced acid secretion. The persistence of reflux symptoms in one patient submitted to antireflux surgery, with the need of proton pump inhibitors reintroduction, also supports this hypothesis.

A recent multicenter sham controlled trial showed that the ablation of HGM in the cervical esophagus using argon plasma coagulation was associated with a significant and sustained control of the globus sensation (21). However, the mean and maximum diameters (7 and 30 mm, respectively) of the treated lesions in these cases of HGM were smaller than those of our cases and noncircular. The efficacy and potential adverse effects, namely stricture formation, of this procedure in these large heterotopias are not known.

There are reports of esophageal strictures, esophagorespiratory fistulas, and adenocarcinomas complicating HGM (6). Esophageal adenocarcinoma associated with HGM is very rare, with 44 cases being described to date (7).

Helicobacter pylori colonization of cervical inlet patches is common and was reported in 73% of the patients with simultaneous gastric colonization and in none of those who tested negative for gastric infection (22). It was closely related to *Helicobacter pylori* density in the stomach (22). In our series, *Helicobacter pylori* infection was observed in only one patient with HGM, but its status in the stomach was not systematically searched.

An association between the presence of HGM (inlet patch) and Barrett's esophagus has been proposed, but remains debatable. In a recent revision of the literature (15), the authors found five reports describing an association between HGM in the proximal esophagus and Barrett's esophagus. However, five other studies failed to find such an association. A pathogenic association between the two entities was suggested by similar mucin staining patterns, but others studies found differences that argued against this association (15).

In summary, although HGM frequently occurs in the upper esophagus, there are only scarce references of its location in the lower esophagus, and those that are available all described it as small islands above the esophago-gastric junction. From this first report of a series of patients with long HGM of the lower esophagus that was initially labeled as Barrett's esophagus, we stress the importance of the anatomic landmarks and histological features that support the differential diagnosis of these entities.

REFERENCES

1. Spechler SJ, Goyal RK. The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia, and Norman Barrett. *Gastroenterology* 1996;110:614-21. DOI: 10.1053/gast.1996.v110.agast960614
2. Waxman I, Gonzalez-Haba-Ruiz M, Vazquez-Sequeiros E. Endoscopic diagnosis and therapies for Barrett esophagus. A review. *Rev Esp Enferm Dig* 2014;106:103-19. DOI: 10.4321/S1130-01082014000200006

3. Akbayir N, Alkim C, Erdem L, et al. Heterotopic gastric mucosa in the cervical esophagus (inlet patch): Endoscopic prevalence, histological and clinical characteristics. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:891-6. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03474.x
4. Borhan-Manesh F, Farnum JB. Incidence of heterotopic gastric mucosa in the upper oesophagus. *Gut* 1991;32:968-72. DOI: 10.1136/gut.32.9.968
5. Jabbari M, Goresky CA, Lough J, et al. The inlet patch: Heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus. *Gastroenterology* 1985;89:352-6.
6. von Rahden BH, Stein HJ, Becker K, et al. Heterotopic gastric mucosa of the esophagus: Literature-review and proposal of a clinicopathologic classification. *Am J Gastroenterol* 2004;99:543-51. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04082.x
7. Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, et al. Primary esophageal adenocarcinoma arising from heterotopic gastric mucosa: Report of a case. *Surg Today* 2013;43:446-51. DOI: 10.1007/s00595-012-0206-9
8. Crockett SD, Lippmann QK, Dellon ES, et al. Health-related quality of life in patients with Barrett's esophagus: A systematic review. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:613-23. DOI: 10.1016/j.cgh.2009.02.024
9. Chandrasoma PT, DeMeester TR. The past, present, and future of columnar-lined (Barrett's) esophagus. In: Chandrasoma PT, DeMeester TR, editors. *GERD reflux to esophageal adenocarcinoma*. San Diego: Elsevier Science; 2006. p. 11-39.
10. Barrett NR. Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg* 1950;38:175-82. DOI: 10.1002/bjs.18003815005
11. Chen YR, Wu MM, Nan Q, et al. Heterotopic gastric mucosa in the upper and middle esophagus: 126 cases of gastroscopy and clinical characteristics. *Hepatogastroenterology* 2012;59:1123-5.
12. Weickert U, Wolf A, Schroder C, et al. Frequency, histopathological findings, and clinical significance of cervical heterotopic gastric mucosa (gastric inlet patch): A prospective study in 300 patients. *Dis Esophagus* 2011;24:63-8. DOI: 10.1111/j.1442-2050.2010.01091.x
13. Tang SJ, Feliciano N, Peng Y. Image of the month. Video imaging of inlet segment: Circumferential gastric mucosa heterotopia in the cervical esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:e37. DOI: 10.1016/j.cgh.2008.11.015
14. Cole D. Heterotopic gastric mucosa: First report of virtual pan-esophageal involvement. *Proceedings of UCLA Healthcare* 2006;10.
15. Chong VH. Clinical significance of heterotopic gastric mucosal patch of the proximal esophagus. *World J Gastroenterol* 2013;19:331-8. DOI: 10.3748/wjg.v19.i3.331
16. Terada T. A clinicopathologic study of esophageal 860 benign and malignant lesions in 910 cases of consecutive esophageal biopsies. *Int J Clin Exp Pathol* 2013;6:191-8.
17. Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, et al. Histology of the gastroesophageal junction: An autopsy study. *Am J Surg Pathol* 2000;24:402-9. DOI: 10.1097/00000478-200003000-00009
18. Tang P, McKinley MJ, Sporrer M, et al. Inlet patch: Prevalence, histologic type, and association with esophagitis, Barrett esophagus, and antritis. *Arch Pathol Lab Med* 2004;128:444-7.
19. Peters FT, Ganesh S, Kuipers EJ, et al. Endoscopic regression of Barrett's oesophagus during omeprazole treatment; a randomised double blind study. *Gut* 1999;45:489-94. DOI: 10.1136/gut.45.4.489
20. Wilkinson SP, Biddlestone L, Gore S, et al. Regression of columnar-lined (Barrett's) oesophagus with omeprazole 40 mg daily: Results of 5 years of continuous therapy. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:1205-9. DOI: 10.1046/j.1365-2036.1999.00593.x
21. Bajbouj M, Becker V, Eckel F, et al. Argon plasma coagulation of cervical heterotopic gastric mucosa as an alternative treatment for globus sensations. *Gastroenterology* 2009;137:440-4. DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.053
22. Gutierrez O, Akamatsu T, Cardona H, et al. Helicobacter pylori and heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus (the inlet patch). *Am J Gastroenterol* 2003;98:1266-70. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07488.

6.5. Characteristics of cardiac epithelium at the esophagogastric junction of a pediatric population with gastroesophageal reflux

Characteristics of cardiac epithelium at the esophagogastric junction of a pediatric population with gastroesophageal reflux

A. Dias Pereira,^{1,3} P. Magalhães Ramalho,⁴ P. Chaves^{2,3}

Departments of ¹Gastroenterology and ²Pathology, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, EPE, ³Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior, and ⁴Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisbon, Portugal

SUMMARY. Cardiac mucosa (CM) of the adult, regardless its location, shares phenotypic characteristics with Barrett's epithelium, namely villin expression and a Barrett's pattern of cytokeratins 7 and 20 expression. As far as we know, the phenotypic profile of CM in children has not been studied. The objective was to evaluate the phenotypic profile of cardiac mucosa from the esophagogastric junction of children with reflux symptoms. Biopsies routinely performed at the esophagogastric junction of children submitted to upper-gastrointestinal endoscopy for complaints suggestive of reflux were retrieved from the archive and used for the purposes of this study. Biopsies were assessed for the presence of squamous epithelium, cardiac and oxyntic mucosa and intestinal metaplasia. Samples displaying both squamous and columnar epithelia were immunohistochemically evaluated for the presence of villin and sucrase-isomaltase and for the expression of cytokeratins 7 and 20. From the 42 biopsies samples retrieved, 30 had simultaneously squamous and columnar epithelia. Cardiac mucosa was present in 86.7% of the cases, and intestinal metaplasia was observed only in one (3.3%). Villin expression in cardiac mucosa was observed in 96% of the cases and a cytokeratins 7 and 20 Barrett's pattern in 73%. Sucrase-isomaltase and MUC2 were only expressed in the case with intestinal metaplasia. Cardiac mucosa was high prevalent in biopsies from the esophagogastric junction of children with reflux. As in adults, cardiac mucosa in children has an immunoprofile similar to Barrett's esophagus. For the first time, it was shown that pediatric cardiac mucosa frequently expresses villin.

KEY WORDS: esophagogastric junction, gastroesophageal reflux, pediatric.

INTRODUCTION

Hayward postulated the normal existence of a strip of mucous-secreting epithelium in the distal esophagus, between the squamous esophageal lining and the oxyntic mucosa of the proximal stomach,¹ and this concept influenced the understanding of the esophagogastric junction (EGJ) for decades. This columnar segment formed by mucous cells without parietal elements was then designated as junctional

or cardiac epithelium and was thought to protect the squamous lining from acidic digestion.

The normal histology of the EGJ has been recently under intense discussion, namely the nature, location (esophageal or gastric) and cancer risk of cardiac mucosa (CM). Based in an autopsy study, where CM was absent of the EGJ in most of the cases, Chandrasoma *et al*² postulated its acquired nature. Similarly Park *et al*³ found no foci of pure CM at the EGJ in 78% of 23 fetal autopsies. On the contrary, Kilgore *et al.* using an autopsy study of a pediatric population without evidence of reflux disease, demonstrated the presence of CM at the EGJ in all the cases, and argued in favor of its native nature.⁴

Besides the EGJ, CM occurs in other locations where it has an unequivocal metaplastic nature, namely in the columnar-lined esophagus^{5,6} and in the esophagogastric anastomosis after esophageal resection.^{7,8} Glickman⁹ and DeMeester¹⁰ using the cytokeratins 7 and 20 and DAS1 demonstrated that

Address correspondence to: Dr A. Dias Pereira, MD, Serviço de Gastreenterologia, Instituto Português de Oncologia de Lisboa de Francisco Gentil, Rua Prof. Lima Basto, Lisboa 1099-023, Portugal. Email: adiaspereira1@gmail.com

Authors' contribution quantification: All three authors contributed equally for the conception, design of the study and data acquisition and interpretation; A. Dias Pereira was responsible for the drafting of the manuscript that was critically reviewed by the other two authors. All authors approved the present version of the manuscript.

CM, intestinal metaplasia (IM) of the EGJ and Barrett's esophagus (BE) share immunophenotypic characteristics. They found a similar staining pattern in the three epithelia, which was clearly distinct from that observed in normal esophageal and gastric (antral and fundic) mucosa. This led the authors to suggest that CM, like BE may also be metaplastic. Using the same panel of antibodies, Lord⁸ demonstrated that the acquired CM developed in the remnant esophagus after esophagectomy displays Barrett-like features.

On the other hand, the intestinal phenotype of Barrett's epithelium has been recognized using the expression of intestinal markers such as villin, sucrase-isomaltase and MUC2. Previously, we found expression of sucrase-isomaltase¹¹ and MUC2¹² in Barrett's epithelium but not in CM of columnar-lined esophageal segments without IM¹² whereas villin was universally expressed in both epithelia.¹³

Considering all these studies, it is evident that CM of the adult, regardless its location, shares phenotypic characteristics with Barrett's epithelium but, as far as we know, the phenotypic profile of CM in children has not been studied.

With the hypothesis that CM in children, as CM in adults, shares immunophenotypic characteristics with BE, the aim of this study was to assess the phenotypic profile of CM in children.

MATERIAL AND METHODS

Population studied

Pediatric patients with complaints suggestive of reflux (heartburn, regurgitation, vomiting or dysphagia) whose endoscopy revealed esophagitis were considered for the purposes of this study. Patients fulfilling clinical criteria but with a normal endoscopy were excluded.

Biopsies routinely performed at the esophago-gastric junction of patients fulfilling inclusion criteria were retrieved from the pathology archives ($n = 42$). None of these 42 patients had endoscopic criteria of columnar-lined esophagus (squamous-columnar junction proximally displaced in relation to the EGJ, defined as the proximal margins of the gastric folds).

Only biopsies that contained the transition from squamous to columnar epithelium were used to study the phenotypic profile of CM ($n = 30$).

An institutional review board waiver of consent was obtained prior to initiating this retrospective study.

Histological study

The samples of the EGJ were assessed for the presence of: (i) squamous epithelium; (ii) CM; (iii) oxyntic mucosa; and (iv) IM. CM was identified by the pres-

ence of a columnar-lined mucosa with a foveolar surface epithelium and an underlying mucous-type glandular structure devoid of oxyntic elements. Oxyntic mucosa was recognized by the presence of a deep glandular structure lined by mucous, parietal and chief cells and a superficial foveolar epithelium. IM was characterized by the recognition of goblet elements.

Immunohistochemical study

The samples obtained from the EGJ were immunohistochemically evaluated for the presence and cellular localization of intestinal markers as well for the expression of cytokeratins 7 and 20. Intestinal features were assessed using monoclonal antibodies against the enterocytic enzymes villin and sucrase-isomaltase, and the goblet cell apomucin MUC2. A result was considered positive whenever immunostaining was observed at the apical cell membrane, for villin and sucrase-isomaltase, and at the supranuclear/Golgi region for the apomucin MUC2. For the evaluation of the immunoexpression of the cytokeratins 7 and 20, two patterns were considered: a Barrett's type, characterized by superficial and deep cytokeratin 7 staining and superficial band-like cytokeratin 20 positivity; and a non-Barrett's type recognized by the absence or weak patchy cytokeratin 7 and diffuse or patchy cytokeratin 20 staining.⁹

For the immunohistochemical study, formalin-fixed paraffin-embedded sections from endoscopic biopsies were attached to glass slides pretreated with gelatin and processed as previously described.⁷ The optimal dilution and the origin of the antibodies used in this study are summarized in Table 1. Duodenum, colon, pancreatic and gastric adenocarcinomas samples were used as positive controls for the detection of villin, sucrase-isomaltase, MUC2, cytokeratin 7 and cytokeratin 20, respectively.

RESULTS

Of the 42 retrieved biopsies (from patients with reflux symptoms, endoscopic esophagitis and biopsies identified as performed at the EGJ), 12 did not contain squamous epithelium and showed only the presence of

Table 1 Origin and optimal dilutions of the primary antibodies

Antibody	Origin	Dilution	Incubation	
			Time	Temperature
CK7	Zymed	1 : 50	30'	RT
CK20	Dako	1 : 30	30'	RT
CACO	A. Quaroni†	1 : 1000	Overnight	4°C
Villin	Novocastra	1 : 1000	30'	RT
MUC2	Novocastra	1 : 100	30'	RT

†(Cornell University, Ithaca, USA). RT, room temperature

Table 2 Columnar epithelial types present in biopsies taken from de esophagogastric junction displaying simultaneously squamous and columnar epithelia ($n = 30$)

Epithelial types	<i>n</i>	%
Cardiac mucosa	26	86,7
Oxyntocardiac mucosa	19	63,3
Oxyntic mucosa	11	36,7
Intestinal metaplasia	1	3,3

columnar epithelium (exclusively oxyntic in 11 and both oxyntic and CM in one) and were not used for the immunohistochemical study. The 30 biopsies that were used (showing squamous and columnar epithelia in the same sample) were taken from 17 boys and 13 girls with a mean age of 10.7 years (ranging from 3 to 17) with gastroesophageal reflux disease (GERD) symptoms lasting for a mean of 21 months (ranging from 3 to 120 months).

Morphologic and Immunohistochemical characteristics of the EGJ mucosa

The morphologic characteristics of the EGJ mucosa samples are summarized in Table 2. In 4 out the 30 sample biopsies from the EGJ showing simultaneously squamous and columnar mucosa, oxyntocardiac mucosa was observed in continuity with squamous, and no CM was observed. Therefore, the prevalence of CM was 86.7% (26/30). The mean distance between the distal limit of the squamous epithelium and the first parietal cell in the 15 cases in which the orientation of the sample allowed this measure was 1.1 mm (ranging from 0.25 mm to 2.25 mm). We found no correlation between CM length and the duration of reflux symptoms or the age of the patients.

A focus of IM was detected in 1 (3.3%) case that exhibited also CM, next to the squamous mucosa. This was observed in a 15-year old boy with a very long history (>5 years) of reflux symptoms, that was intermittently treated with proton pump inhibitors for the last 3 years.

The immunohistochemical characteristics of CM are summarized in Table 3.

Villin (Fig. 1) was expressed in CM in all but one case; a CK 7/20 Barrett-type immunopattern (Fig. 2A and B) was observed in about three quarters of the cases.

Table 3 Immunocytochemical characteristics of cardiac mucosa at the esophagogastric junction ($n = 26$)

Characteristics	<i>n</i>	%
CK7/20 Barrett pattern	19	73
Villin	25	96
Sucrase-isomaltase	0	0
MUC2	0	0

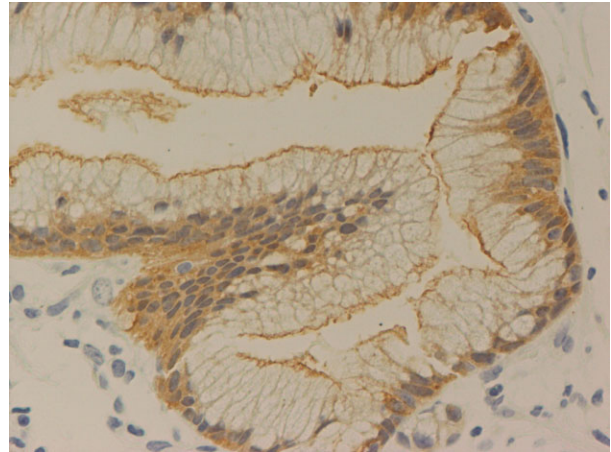


Fig. 1 Apical expression of villin.

In the sole foci of IM detected at the EGJ, the columnar non-goblet cells exhibited apical staining for villin and sucrase-isomaltase, and the goblet and some columnar non-goblet elements contained MUC2; a

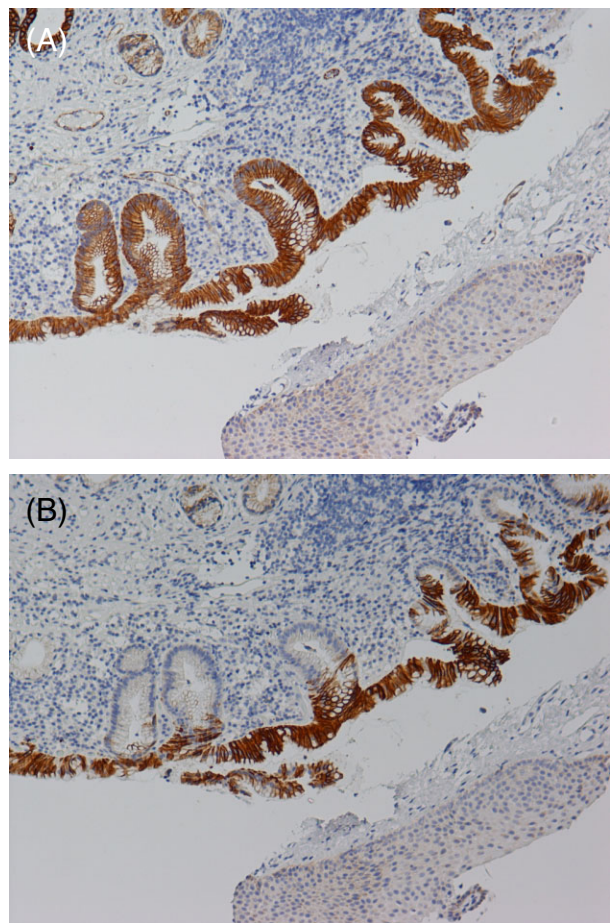


Fig. 2 Cytokeratins 7 and 20 Barrett's pattern in cardiac mucosa. (A) Superficial and deep positive staining for cytokeratin 7 in cardiac mucosa. (B) Superficial band-like positive staining for cytokeratin 20 in cardiac mucosa.

Barrett-type pattern of CK7/CK20 was observed. In this case, CM adjacent to IM was negative for MUC2 and sucrase-isomaltase and positive for villin.

DISCUSSION

In this study of pediatric patients with gastro-esophageal reflux, we demonstrated that CM at the EGJ displays, as previously reported in adults, a phenotypic profile similar to BE.

Recently published autopsy and endoscopic studies in pediatric populations lead to conflicting results considering the prevalence and nature of CM. In a retrospective autopsy series, CM was found in 2 out of 11 children under 19 years old.² The same authors had also prospectively evaluated a series of seven children whose EGJ were totally processed for histological analysis and detected CM in four cases (57%). The frequent absence of CM at EGJ, its small length, non-circumferential distribution and increased prevalence and length with age led the authors to conclude for its acquired nature.²

On the contrary, Kilgore *et al.* in an autopsy study of 30 children under 18 years old, without history of GER reported the presence of CM at the EGJ in all the cases.⁴ Similarly, in 100 autopsies of a population with a mean age of 2.2 years without GER,¹⁴ CM was found in all the cases, with a mean length of 1 mm (ranging from 0.1 to 3 mm). The universal presence of CM in young individuals without a previous history of reflux disease was used as an argument of its congenital nature. The data from the autopsy study of Zhou *et al.*¹⁵ also support this native nature. They found mucous glands and mixed glands below the squamous-columnar junction respectively in 5% and 55% of the fetuses and in 48% and 46% of post-natal children ranging from 40 weeks of gestation to 17 years old.¹⁵

As far as we know, there is a sole endoscopic study on the EGJ of children¹⁶ where a high prevalence of CM was found (81%), similar to that reported in adults.¹⁷ This finding was used to argue in favor of a congenital nature of CM on this location. Nevertheless, this study detected a positive association between the extension of CM at the EGJ and the presence of esophagitis.

The prevalence of CM we observed was similar to that reported in the study of Glickman.¹⁶ The recognition that CM extension in normal-appearing EGJ is very short lead Glickman to propose that the evaluation of CM prevalence must be done exclusively in biopsies from the squamous-columnar junction (Z line).¹⁶ Our data strongly support the use of this strict criterion for the evaluation of CM in normal appearing EGJ. Furthermore, CM prevalence in biopsies from EGJ that failed to include both epithelia is much lower.

In the present report, only one child had IM in EGJ biopsies, corresponding to 3.3% of the patients and to 3.8% of those with CM. It is known that the prevalence of IM in columnar-lined esophagus in children is much lower than in adults, and that this may be an age-related phenomenon.¹⁸ The prevalence of IM at normal appearing EGJ in adults submitted to diagnostic endoscopy ranges widely from 9% to 36%.^{19–22} In a group of 44 unselected Portuguese adults, IM was found in 25%.^{23,24} The prevalence found in an autopsy study was 10.3%.²⁴ As expected, the prevalence of IM in this study is much lower than the reported in adults.

The 15% prevalence of IM in EGJ of pediatric patients previously reported by Glickman is much higher than the observed in the present study.¹⁶ This could not be explained by differences in age, biopsy samples number or prevalence of GER between the two studied populations. This suggests that other factors are implicated in IM pathogenesis – genetic factors and duodenal-gastric-esophageal reflux have been proposed²⁵ – and that they probably act very early in life.

In CM phenotypic profile evaluation, we found an almost universal expression of the brush border protein villin (25 out of 26) and a high frequency of Barrett's pattern of CK7/20 expression (73%); sucrase-isomaltase and MUC2 expression was never observed.

Villin expression was previously observed in 21/21 (100%) of intestinal-type Barrett's metaplasia and in 28/30 (93%) of Barrett's adenocarcinomas.²⁶ High-villin expression was also detected in 81% of gastric cardia and in 75% of distal esophageal adenocarcinomas.²⁶ A recently published study of 122 biopsy sets of 61 patients with BE reports a lower positivity for villin immunoexpression in IM samples (58%);²⁷ the same study detected the presence of villin in 7 of 23 samples (30%) of CDX2-positive cardiac-type mucosa samples.²⁷

In the present study, CM showed an apical staining, similar to that previously reported by Regalado²⁶ in BE, which suggests the presence of a well-developed brush border. Villin was not detected in oxyntic mucosa. In the case with IM, villin was observed both in intestinalized mucosa and in CM. Therefore, villin expression in biopsies from normal appearing EGJ, in the absence of IM, emerges as a marker of CM.

Sucrase-isomaltase is a brush-border disaccharidase that is normally expressed in enterocytic cells of the adult small intestine. Sucrase-isomaltase was recognized in intestinal-type Barrett's epithelium, even in areas where goblet cells were absent, as well as in dysplastic Barrett's mucosa and in 80% of esophageal adenocarcinomas.²⁸

In the present study, sucrase-isomaltase was never detected, except in the setting of IM of the EGJ. In

this sole case, CM and oxyntic mucosa did not express sucrase-isomaltase. Our data strongly suggest that sucrase-isomaltase expression in biopsies from EGJ is only observed in the setting of IM.

It has been shown that BE has a typical, although not exclusive nor universal, pattern of expression of CK7/20 that was different from that observed in normal gastric mucosa and IM of the distal (corpus and antrum) stomach as well of the EGJ.²⁹ According to Ormsby *et al.*,²⁹ Barrett's pattern consisted of diffuse and strong CK7 staining of the surface and glandular epithelium associated to a weak staining of the superficial epithelium with CK20. Others could not replicate these results,⁹ and technical issues, observer variability in the interpretation of the staining, type of the samples and of the fixatives used were admitted as possible reasons for this variation.³⁰ However, Odze argues that the most important reason are sampling techniques and the anatomical location from where samples are obtained, being the likelihood of finding a non-Barrett pattern higher in biopsies taken more distally from the cardia.³¹ Although the CK7/20 Barrett's pattern has been associated to GER but not to *Hp* infection by Couvelard *et al.*,³² most authors agree that it is not possible to infer the etiology (reflux or *Helicobacter pylori* induced) of IM of the EGJ from the pattern of CK7/20 immunoexpression.³¹ El-Zimaity demonstrated that these keratins profile cannot distinguish IM at the EGJ from IM of BE and proposed the existence of a biological link between the two epithelia.³³ It has been demonstrated by two independent studies^{8,9} that CM at the EGJ of adults has a CK7/20 pattern similar to BE and IM of the cardia and different from normal antral mucosa. This pattern was similar to that observed in areas of non-intestinalized columnar mucosa of BE,^{8,9} in CM developing in the remnant esophagus after esophagectomy¹⁰ and in columnar-lined esophagus without IM.¹³

Our results show a CK7/20 Barrett's pattern in 88% of cases of CM at the EGJ, suggesting that the CK7/20 Barrett's pattern previously detected in adult CM is an early event being already present in pediatric patients.

From a conceptual point of view, it must be discussed the nature and localization of CM in this group of pediatric patients with reflux symptoms and endoscopic esophagitis. Have biopsies been taken from the true gastric cardia (defined as the most proximal aspect of the stomach³⁰) or from the distal esophagus (being CM in this case metaplastic^{10,16,32,34})? Endoscopically, none of the patients had a columnar-lined esophagus. However, there is agreement that it may be very difficult to identify minor displacements of the Z-line in relation to the EGJ at endoscopy and to be sure in what side of the EGJ biopsies had been performed.^{31,35} There are histological markers that favor the esophageal or

gastric location of the biopsies. It has been proposed that when esophageal glands and their ducts are histologically observed in columnar-lined mucosa, a diagnosis of esophageal metaplastic epithelium can be made.³⁶ The presence of a multilayered epithelium that has morphologic and ultrastructural features of both squamous and columnar epithelium, usually seen close to the opening of submucosal glands ducts, has been associated to reflux and to an esophageal location.³⁷ However, these two markers of esophageal origin of EGJ biopsies were only present in around 10% of EGJ biopsies showing CM, oxintocardiac mucosa and IM.³⁸ The immunohistochemical combined expression of MUC-1 and MUC-6 in goblet cells was shown to have a 90% specificity for reflux induced IM or BE when compared to IM of the cardia related to *H. pylori*.³⁹ In our series, the esophageal or gastric location of CM cannot be established with certainty, and we must admit the possibility, even in the presence of esophagitis, that some cases can correspond to CM of the true gastric cardia. In this context, the observed high rate of CM villin expression (25/26) would suggest that villin expression may be a feature of CM independent of its location and nature.

In the present study, the presence of villin in pediatric CM was for the first time demonstrated, but its native or metaplastic nature couldn't be clarified. The evaluation of villin expression in fetal EGJ could help on the clarification of the links between the epithelium present in EGJ during fetal life and CM that Chandrasoma claims to be absolutely distinct.⁴⁰

CONCLUSIONS

CM is high prevalent in biopsies from the EGJ of pediatric patients with GER symptoms and has, as occurs with CM from adults, an immunoprofile similar to BE, namely on cytokeratins 7 and 20 expression. Our results shows for the first time that CM in children, as happens in adults, expresses villin, a feature that is shared with IM, the sole epithelium undoubtedly metaplastic in this location.

References

- 1 Hayward J. The lower end of the oesophagus. *Thorax* 1961; 16: 36–41.
- 2 Chandrasoma P T, Der R, Ma Y, Taira M. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 402–9.
- 3 Park Y S, Park H J, Kang G H, Kim C J, Chi J G. Histology of gastroesophageal junction in fetal and pediatric autopsy. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 451–5.
- 4 Kilgore S P, Ormsby A H, Gramlich T L *et al.* The gastric cardia: fact or fiction? *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 921–4.
- 5 Chandrasoma P T, Der R, Dalton P *et al.* Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 1188–93.

- 6 Hassall E. Cardia-type mucosa as an esophageal metaplastic condition in children: 'Barrett esophagus, intestinal metaplasia-negative?' [corrected]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008; 47: 102–6.
- 7 Chaves P, Pereira A D, Cruz C *et al*. Recurrent columnar-lined esophageal segments – study of the phenotypic characteristics using intestinal markers. *Dis Esophagus* 2002; 15: 282–6.
- 8 Lord R V, Wickramasinghe K, Johansson J J, Demeester S R, Brabender J, Demeester T R. Cardiac mucosa in the remnant esophagus after esophagectomy is an acquired epithelium with Barrett's-like features. *Surgery* 2004; 136: 633–40.
- 9 Glickman J N, Wang H, Das K M *et al*. Phenotype of Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the distal esophagus and gastroesophageal junction: an immunohistochemical study of cytokeratins 7 and 20, Das-1 and 45 MI. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 87–94.
- 10 DeMeester S R, Wickramasinghe K S, Lord R V *et al*. Cytokeratin and DAS-1 immunostaining reveal similarities among cardiac mucosa, CIM, and Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2514–23.
- 11 Chaves P, Cardoso P, de Almeida J C, Pereira A D, Leitao C N, Soares J. Non-goblet cell population of Barrett's esophagus: an immunohistochemical demonstration of intestinal differentiation. *Hum Pathol* 1999; 30: 1291–5.
- 12 Chaves P, Cruz C, Dias Pereira A *et al*. Gastric and intestinal differentiation in Barrett's metaplasia and associated adenocarcinoma. *Dis Esophagus* 2005; 18: 383–7.
- 13 Dias Pereira A, Chaves P. Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 282–9.
- 14 Derdoy J J, Bergwerk A, Cohen H, Kline M, Monforte H L, Thomas D W. The gastric cardia: to be or not to be? *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 499–504.
- 15 Zhou H, Greco M A, Daum F, Kahn E. Origin of cardiac mucosa: ontogenic consideration. *Pediatr Dev Pathol* 2001; 4: 358–63.
- 16 Glickman J N, Fox V, Antonioli D A, Wang H H, Odze R D. Morphology of the cardia and significance of carditis in pediatric patients. *Am J Surg Pathol* 2002; 26: 1032–9.
- 17 Law S, Lam K Y, Chu K M, Wong J. Specialized intestinal metaplasia and carditis at the gastroesophageal junction in Chinese patients undergoing endoscopy. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1924–9.
- 18 Qualman S J, Murray R D, McClung H J, Lucas J. Intestinal metaplasia is age related in Barrett's esophagus. *Arch Pathol Lab Med* 1990; 114: 1236–40.
- 19 Trudgill N J, Suvarna S K, Kapur K C, Riley S A. Intestinal metaplasia at the squamocolumnar junction in patients attending for diagnostic gastroscopy. *Gut* 1997; 41: 585–9.
- 20 Nakamura M, Kawano T, Endo M, Iwai T. Intestinal metaplasia at the esophagogastric junction in Japanese patients without clinical Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3145–9.
- 21 Wallner B, Sylvan A, Stenling R, Janunger K G. The esophageal Z-line appearance correlates to the prevalence of intestinal metaplasia. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 17–22.
- 22 Polkowski W, van Lanschot J J, ten Kate F J *et al*. Intestinal and pancreatic metaplasia at the esophagogastric junction in patients without Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 617–25.
- 23 Pereira A D, Suspiro A, Chaves P *et al*. Short segments of Barrett's epithelium and intestinal metaplasia in normal appearing oesophagogastric junctions: the same or two different entities? *Gut* 1998; 42: 659–62.
- 24 Ormsby A H, Kilgore S P, Goldblum J R, Richter J E, Rice T W, Gramlich T L. The location and frequency of intestinal metaplasia at the esophagogastric junction in 223 consecutive autopsies: implications for patient treatment and preventive strategies in Barrett's esophagus. *Mod Pathol* 2000; 13: 614–20.
- 25 Malfertheiner P, Peitz U. The interplay between *Helicobacter pylori*, gastro-oesophageal reflux disease, and intestinal metaplasia. *Gut* 2005; 54 (Suppl 1): i13–20.
- 26 Regalado S P, Nambu Y, Iannettoni M D, Orringer M B, Beer D G. Abundant expression of the intestinal protein villin in Barrett's metaplasia and esophageal adenocarcinomas. *Mol Carcinog* 1998; 22: 182–9.
- 27 Kerkhof M, Bax D A, Moons L M *et al*. Does CDX2 expression predict Barrett's metaplasia in oesophageal columnar epithelium without goblet cells? *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1613–21.
- 28 Wu G D, Beer D G, Moore J H, Orringer M B, Appelman H D, Traber P G. Sucrase-isomaltase gene expression in Barrett's esophagus and adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1993; 105: 837–44.
- 29 Ormsby A H, Goldblum J R, Rice T W *et al*. Cytokeratin subsets can reliably distinguish Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. *Hum Pathol* 1999; 30: 288–94.
- 30 Odze R D. Unraveling the mystery of the gastroesophageal junction: a pathologist's perspective. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1853–67.
- 31 Odze R. Cytokeratin 7/20 immunostaining: Barrett's oesophagus or gastric intestinal metaplasia? *Lancet* 2002; 359: 1711–3.
- 32 Couvelard A, Cauvin J M, Goldfain D *et al*. Cytokeratin immunoreactivity of intestinal metaplasia at normal oesophagogastric junction indicates its aetiology. *Gut* 2001; 49: 761–6.
- 33 El-Zimaity H M, Graham D Y. Cytokeratin subsets for distinguishing Barrett's esophagus from intestinal metaplasia in the cardia using endoscopic biopsy specimens. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1378–82.
- 34 Chandrasoma P T, Der R, Ma Y, Peters J, Demeester T. Histologic classification of patients based on mapping biopsies of the gastroesophageal junction. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 929–36.
- 35 Spechler S J. The role of gastric carditis in metaplasia and neoplasia at the gastroesophageal junction. *Gastroenterology* 1999; 117: 218–28.
- 36 Takubo K, Aida J, Sawabe M *et al*. The normal anatomy around the oesophagogastric junction: a histopathologic view and its correlation with endoscopy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008; 22: 569–83.
- 37 Glickman J N, Chen Y Y, Wang H H, Antonioli D A, Odze R D. Phenotypic characteristics of a distinctive multilayered epithelium suggests that it is a precursor in the development of Barrett's esophagus. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 569–78.
- 38 Shi L, Der R, Ma Y, Peters J, Demeester T, Chandrasoma P. Gland ducts and multilayered epithelium in mucosal biopsies from gastroesophageal-junction region are useful in characterizing esophageal location. *Dis Esophagus* 2005; 18: 87–92.
- 39 Glickman J N, Shahsafaei A, Odze R D. Mucin core peptide expression can help differentiate Barrett's esophagus from intestinal metaplasia of the stomach. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 1357–65.
- 40 Chandrasoma P T. Fetal 'cardiac mucosa' is not adult cardiac mucosa. *Gut* 2003; 52: 1798–9.

7. Discussão final

O esófago de Barrett constitui a condição precursora do adenocarcinoma do esófago, a neoplasia cuja incidência mais aumentou nas últimas quatro décadas. Conhecida a entidade, a relação com o adenocarcinoma, o risco aparentemente elevado de progressão e a sua acessibilidade endoscópica, rapidamente foi proposta a vigilância endoscópica segundo protocolos que foram incluídos em *guidelines* entretanto produzidos.

Contudo, existem ainda hoje questões controversas relacionadas com o conceito, o diagnóstico e o manejo dos doentes com esófago de Barrett. Talvez a mais importante de todas essas questões seja a do risco de progressão neoplásica que lhe está associado e, estritamente relacionada com esta, a indicação para, e vantagens em, submeter estes doentes a vigilância.

No trabalho “Low risk of adenocarcinoma and high-grade dysplasia in non-dysplastic Barrett’s esophagus patients: results from a cohort from a low esophageal adenocarcinoma incidence country” foi avaliado o risco de progressão para displasia de alto grau e adenocarcinoma de um coorte de doentes com esófago de Barrett negativo para displasia e a existência de eventuais factores preditivos dessa progressão.

A questão do risco de progressão associado ao esófago de Barrett negativo para displasia é importante porque o custo-efectividade de eventuais programas de vigilância lhe está intimamente ligado^{174, 175}. A diminuição progressiva observada no risco de cancro no esófago de Barrett ao longo dos últimos quinze anos, relacionada com o aperfeiçoamento metodológico dos trabalhos publicados, nomeadamente com a exclusão de casos com displasia no momento da inclusão e dos casos de adenocarcinoma e displasia de alto grau prevalentes¹³⁷, tem questionado o custo-efectividade da vigilância endoscópica no esófago de Barrett negativo para displasia¹⁷⁴⁻¹⁸⁰. Daí a importância da identificação de marcadores clínicos, histológicos ou moleculares que permitam estratificar o risco e adaptar a vigilância ao risco identificado em cada sub-grupo.

A validade de um estudo de incidência de adenocarcinoma (e de displasia de alto grau) num coorte de doentes com esófago de Barrett depende de critérios de qualidade que foram bem expressos por Desai na meta-análise que publicou¹⁰⁹. Dos 56 estudos incluídos na meta-análise, apenas 10 não tinham simultaneamente viés de selecção (inclusão de doentes com displasia) e tinham mais de 5 anos de média de tempo de vigilância e pelo menos um ano de vigilância mínima. Contudo, nesses 10 estudos, que o autor classificou como da mais alta qualidade, a incidência observada foi semelhante à observada na totalidade dos trabalhos incluídos. À luz dos critérios definidos por Desai¹⁰⁹, o nosso trabalho pode ser considerado como de elevada qualidade pois exclui os casos com displasia na endoscopia índice, exclui os casos de progressão no primeiro ano de evolução, tem um número de doentes perdidos muito

baixo e uma vigilância média longa, endoscópica (6,9 anos) e total (10,7 anos). Para além deste aspecto, apenas 10 dos 56 trabalhos incluídos na meta-análise tinham um número mais elevado de doentes que o nosso coorte e apenas 7 e 4 tinham um tempo de vigilância superior, se considerarmos o tempo de vigilância endoscópico ou total, respectivamente. Destes factos resulta que a incidência observada no nosso coorte é fiável.

O risco anual observado no coorte de doentes com esófago de Barrett que seguimos prospectivamente foi muito baixo, quer se considerasse o diagnóstico de adenocarcinoma (0,09% [IC95%, 0,02-0,29]), de displasia de alto grau (0,22% [IC95%, 0,08-0,49]) ou o diagnóstico de displasia de alto grau e adenocarcinoma em conjunto (0,31% [IC95%, 0,13-0,6]). Sendo aceite e prática corrente a mesma abordagem dos doentes com esófago de Barrett com displasia de alto e adenocarcinoma (esofagectomia ou ressecção/ablação endoscópica) e tendo a intervenção terapêutica repercussão na incidência do adenocarcinoma, é conceptualmente correcto que o risco seja calculado para o conjunto dessas duas etapas da progressão neoplásica. Com efeito, traduz de um modo mais exacto o risco de progressão, embora antecipe esse risco no tempo pois é sabido que a progressão da displasia de alto grau é um processo temporal de duração variável, mas que pode ser longo ^{159, 181, 182}.

O risco observado questiona a indicação para vigilância endoscópica do esófago de Barrett na população portuguesa e está muito abaixo do limite considerado custo-efectivo para a estratégia, que nos estudos de Provenzale ¹⁷⁴ e Inadomi ¹⁷⁵ era de 0,5% e 1,9%, respectivamente. Em relação aos segmentos curtos, o risco de displasia de alto grau e adenocarcinoma foi de 0,07% (IC95%, 0,03-3,4), idêntico ao observado para a displasia de alto grau, já que não se observou nenhum caso de adenocarcinoma em segmentos curtos. Efectivamente, apenas foi observado um evento neste subgrupo de doentes, que representava cerca de 2/3 do coorte. O risco observado nos segmentos longos foi cerca de dez vezes superior ao dos segmentos curtos (0,7% [IC95%, 0,3-1,5]). Estes riscos diferentes reflectem diferenças com significado estatístico entre a extensão do segmento metaplásico e a progressão para displasia de alto grau e adenocarcinoma, bem como entre o risco cumulativo de progressão neoplásica dos segmentos curtos e longos.

A relação da extensão do esófago de Barrett com o risco de progressão neoplásica, é desde há muito conhecida ¹⁸³, embora continue a ser uma questão em debate. Na recente meta-análise de Desai ¹⁰⁹ o risco observado de adenocarcinoma foi cerca de duas vezes superior nos segmentos longos em relação aos segmentos curtos (0,33% versus 0,19%). Nas restantes 5 meta-análises ^{20, 105-108}, apenas em duas foi avaliado o impacto da extensão, tendo sido observado quer um risco não significativamente diferente ¹⁰⁷ e um risco superior nos segmentos longos ¹⁰⁶.

Wani ¹⁴⁶ verificou, num coorte de 12204 indivíduos com esófago de Barrett, que o risco de cancro em segmentos com extensão menor e igual ou superior a 6 centímetros era significativamente mais elevado nos segmentos mais extensos (0,09% versus 0,65%). Nós

observámos, para as mesmas extensões, incidências respectivamente de 0,05% e 0,4%, embora a dimensão da amostra e o número de eventos determinassem intervalos de confiança muito amplos. Recentemente foi publicado um trabalho que demonstrou que a vigilância endoscópica dos segmentos longos a intervalos de 5 anos tem custo-efectividade, na perspectiva dos cuidados de saúde da Holanda ¹⁷⁹.

Os *guidelines* da BSG ⁴ e australianos ⁵ consideram intervalos de vigilância de 2-3 anos para os segmentos longos e de 3 a 5 anos para os curtos. A SFED ⁶ vai mais longe na estratificação dos intervalos de vigilância, propondo intervalos de 5 anos para os segmentos até 3 centímetros, de 3 anos para os segmentos entre 3 e 6 centímetros e de 2 anos para os que tenham mais de 6 centímetros. A AGA ³ e o ACG ² recomendam respectivamente intervalos de vigilância de 3 a 5 anos e de 3 em 3 anos, sem tomarem em conta a extensão. De realçar que recentemente foi publicada uma extensa revisão e um consenso para o manejo de doentes com esófago de Barrett ¹⁰⁴ que não faz recomendações específicas quanto à vigilância, mas sublinha apenas que, a ser feita, deve ser dirigida a grupos de risco elevado com uma esperança de vida superior a 5 anos.

O risco observado na população portuguesa aconselha uma reflexão sobre os intervalos de vigilância que praticamos. Com a evidência do risco ser muito baixo nos segmentos com extensão até 3 centímetros, devemos considerar a hipótese de alargar os intervalos que temos praticado para intervalos no limite máximo do que é proposto pela BSG, isto é, 5 anos. Contudo, esta decisão tem de ser balizada com a monitorização da evolução da incidência do adenocarcinoma do esófago no nosso país, pois o seu aumento significativo obrigará a reavaliar o intervalo agora proposto. Recentemente, com a evidência de que a persistência de ausência de displasia em exames endoscópicos sucessivos se associa a um baixo risco de progressão ¹⁸⁴, foi proposta a suspensão da vigilância após 3-5 endoscopias com biopsias negativas para displasia ¹⁸⁵.

Temos consciência que a evidência da vantagem da vigilância endoscópica é neste momento ainda pouco robusta. Do risco tradicionalmente associado ao esófago de Barrett resultava a impossibilidade ética da realização de estudos randomizados, comparando vigilância com não vigilância. A evidência produzida de que esse risco é muito inferior, como também resulta dos nossos resultados, permitiu ultrapassar a questão ética que bloqueava a realização desse tipo de estudos. O estudo randomizado BOSS ¹⁸⁶, em fase de preparação, cujo objectivo é comparar não vigilância com vigilância endoscópica de 2/2 anos por um período de 10 anos, vai permitir construir nova evidência neste campo. Neste momento os argumentos a favor da vigilância resultam da evidência que os casos de progressão observados no contexto de vigilância (mas apenas se adequada ¹⁸) são diagnosticados mais frequentemente numa fase precoce (displasia de alto grau ou adenocarcinoma superficial), como ocorreu no nosso coorte, e que esse facto se associa a maior sobrevivência ¹⁸⁷.

Na objecção à vigilância do esófago de Barrett têm peso a esperança de vida normal destes doentes, o facto de o adenocarcinoma do esófago ser uma causa pouco frequente de morte nos doentes com esófago de Barrett e de muitos casos de adenocarcinoma serem diagnosticados em doentes sem diagnóstico anterior de esófago de Barrett. Isto implicaria que o impacto da vigilância sobre a mortalidade por adenocarcinoma do esófago fosse mínimo^{188, 189}. No grupo de doentes que seguimos a morte por adenocarcinoma do esófago foi uma causa rara de mortalidade.

Outros factores têm sido associados ao risco aumentado de progressão neoplásica no esófago de Barrett, nomeadamente o diagnóstico de displasia de baixo grau^{165-167, 190}, o sexo masculino¹⁹¹⁻¹⁹³, a idade^{143, 193}, o tabaco^{143, 191, 194-197} e a obesidade, especialmente abdominal^{192, 196, 198, 199}.

No coorte que seguimos o diagnóstico de displasia de baixo grau, na primeira endoscopia de vigilância ou nas subsequentes, não se associou ao risco de progressão. O baixo número de diagnósticos de displasia de baixo grau e de casos de progressão, associado à ocorrência de progressão em doentes previamente com biopsias sempre negativas para displasia explicam essa falta de associação. Discutiremos mais profundamente a questão da displasia mais adiante.

A relação homem/mulher no presente estudo é de 3:1. Um estudo recente que incluiu 65,823 adenocarcinomas do esófago verificou que 86,5% tinham ocorrido em homens⁸⁹. No nosso coorte todos os casos de progressão ocorreram em homens, mas a diferença observada entre os dois sexos não atingiu significado estatístico.

O impacto do diagnóstico de displasia de baixo grau no risco de progressão para displasia de alto-grau e adenocarcinoma está bem documentado¹⁶⁷, sobretudo nos casos em que um diagnóstico inicial é confirmado por um patologista gastrointestinal experiente ou quando dois patologistas gastrointestinais concordam nesse diagnóstico^{158, 162, 165, 200}. O risco associado às premissas anteriores é tão significativo que é aceite³, embora não consensual⁴, serem indicação para a realização de terapêutica ablativa, cuja eficácia na prevenção da progressão neoplásica neste contexto foi recentemente demonstrada^{201, 202}. As questões relacionadas com a reprodutibilidade do diagnóstico da displasia e da concordância intra e inter-observador no diagnóstico e classificação da displasia têm sido amplamente discutidas^{24, 157}. Os estudos têm mostrado um elevado grau de variação intra e inter-observador na classificação da displasia^{156, 158, 200, 203}. Existe evidência que a reprodutibilidade do diagnóstico é inferior nos extremos do espectro da displasia (negativo versus indefinido versus baixo grau e alto grau versus adenocarcinoma intra-mucoso)¹⁵⁶. A maioria dos estudos anteriormente referidos de reprodutibilidade provêm dos Estados Unidos, país onde a prevalência do esófago de Barrett e a incidência de adenocarcinoma são elevadas. Os dois estudos mais recentes sobre o impacto da revisão por patologistas gastrointestinais do diagnóstico de displasia de baixo grau provêm dum centro de referência na Holanda, com um grande volume de doentes

com e sem displasia^{162, 165}. A questão desses resultados serem reprodutíveis em condições de baixa incidência de adenocarcinoma do esófago na população em geral e na população com esófago de Barrett, que se traduz num menor volume de casos avaliados pelos patologistas, é importante se queremos adoptar os procedimentos terapêuticos que os trabalhos anteriormente referidos propõem.

Foi a essa questão que procurámos responder com o trabalho “Dysplasia in Barrett’s esophagus: intraobserver and interobserver concordance in diagnosis and classification”. Os nossos resultados mostraram uma concordância intra-observador de moderada a substancial para indefinido para displasia e displasia de baixo grau, bem como na distinção entre casos negativos para displasia e casos indefinidos para displasia ou com displasia baixo grau. No que respeita à concordância inter-observador, no geral mais fraca que a concordância intra-observador, verificou-se ter sido pobre em relação ao indefinido para displasia, moderada na displasia de baixo grau e para toda a amostra considerando os três graus (negativo, indefinido e baixo grau) e substancial quando apenas foram consideradas duas categorias (negativo para displasia versus displasia). Na análise por pares de patologistas, observámos uma maior homogeneidade da concordância na classificação da displasia de baixo grau e na distinção entre negativo para displasia e displasia, tendo um dos pares uma concordância sempre mais fraca que os outros dois.

Os resultados obtidos no presente estudo não diferem significativamente dos anteriormente publicados^{156, 158, 200, 203}. A existência de um número muito restrito de trabalhos nesta área tem uma justificação prática, clínica, óbvia. Durante muito tempo a resposta relevante pedida aos patologistas era o diagnóstico de displasia de alto grau e o diagnóstico diferencial com o adenocarcinoma, pois era aquela da qual derivavam atitudes clínicas distintas. Por isso, foi definido desde há muito a necessidade da concordância entre dois patologistas independentes no diagnóstico de displasia de alto grau. Como os *guidelines*² admitiam, face ao diagnóstico de displasia de alto grau a vigilância intensiva ou a ressecção (cirúrgica ou endoscópica), a distinção entre displasia de alto e adenocarcioma (indicação formal para ressecção/ablação) era importante. Daí existirem na literatura um conjunto vasto de trabalhos avaliando a reprodutibilidade e a acuidade desse diagnóstico, nomeadamente a capacidade da sua distinção em material de biopsia^{154, 204-210}. O desenvolvimento da endoscopia de alta definição/resolução e a existência de centros diferenciados nesta patologia veio permitir que, em 80% dos doentes referenciados por displasia de alto grau, sejam detectadas lesões macroscópicas na endoscopia^{211, 212}. Este facto tornou acessível à ressecção endoscópica a maioria dos casos de diagnóstico de displasia de alto grau e existe evidência que a distinção entre displasia de alto grau e adenocarcinoma é mais reprodutível nas peças de mucosectomia²¹³⁻²¹⁵. Apesar da questão do diagnóstico diferencial entre a displasia de alto grau e o adenocarcinoma em biopsia ter deixado de ter a relevância que tinha, existe um trabalho recente que mostra que ela é sobrediagnosticada no esófago de Barrett²¹⁶.

A relevância da acuidade diagnóstica da displasia de baixo grau resulta de um conjunto de trabalhos que demonstrou que, em certas circunstâncias, ela é um marcador que se associa a um elevado risco de progressão para displasia de alto grau e adenocarcinoma ^{154, 162, 165}. Os nossos resultados estão em consonância com os de trabalhos anteriores. Observámos que nos 8 doentes com o diagnóstico de displasia de baixo grau durante a vigilância não submetidos a terapêuticas ablativas, nos quais, na revisão efectuada, dois ou mais patologistas concordaram com o diagnóstico, um pouco mais de 60% progrediram para displasia de alto grau ou adenocarcinoma. Pelo contrário, não se observou progressão em nenhum dos casos em que tal concordância não se verificou. Esta repercussão da concordância no diagnóstico prévio de displasia de baixo grau, não foi observada quando o diagnóstico prévio de indefinido para displasia foi revisto por dois ou mais dos patologistas para displasia de baixo grau. Embora dois dos doentes nestas condições tenham progredido, na maioria isso não ocorreu.

Os nossos resultados sustentam que em Portugal o diagnóstico de displasia de baixo grau em doentes com esófago de Barrett, quando confirmado por dois patologistas gastrointestinais, especialmente se experientes na área, se associa à progressão para displasia de alto grau ou adenocarcinoma dum modo semelhante ao reportado por centros especializados com alto volume de doentes com esófago de Barrett ^{162, 165}. Isto leva a que, neste contexto, seja também justificada a realização de terapêutica ablativa na nossa população ²⁰¹.

O terceiro objectivo delineado para a presente Tese era contribuir para a definição do conceito de esófago de Barrett. Não abordaremos, nesta discussão, os conceitos que vêm do oriente, já que as diferenças em relação aos ocidentais ultrapassam muito amplamente o problema do esófago de Barrett. Os aspectos não consensualizados no ocidente traduzem-se em mais do que meras diferenças de opinião e têm repercussão no volume de doentes diagnosticados, no volume de exames de vigilância efectuados, eventualmente na qualidade dessa vigilância e no risco de progressão observado.

A questão da necessidade da evidência da presença de metaplasia intestinal é porventura a questão central nesta discussão. Weinstein e Ippoliti ⁹⁴ em 1996 afirmaram que o pré-requisito para o diagnóstico do esófago de Barrett era a presença de células calciformes tipo intestinal em pelo menos uma biopsia do esófago distal. Este conceito foi incorporado nos *guidelines* do ACG ⁹⁸ e da AGA ³, mantendo-se nas revisões entretanto ocorridas ^{2, 98}. Levado ao extremo, o diagnóstico de esófago de Barrett e a indicação para vigilância depende da demonstração de uma única célula calciforme. Esta posição baseia-se na evidência disponível, tida como suficiente para considerar que a presença da célula calciforme caracterizava a lesão que predisponha para a maioria, se não para todos os adenocarcinomas associados ao esófago de Barrett ⁹⁴. Em 2005, a BSG estabeleceu que a definição apropriada de “esófago de Barrett” seria um esófago no qual qualquer extensão do revestimento pavimentoso normal do esófago tivesse sido substituída por um epitélio colunar metaplásico que fosse visível macroscopicamente acima da junção esófago-gástrica e confirmado ou

corroborado histologicamente (presença de epitélio intestinal, cárdico ou fúndico) ¹⁰⁰. Nas revisões de 2006 e de 2014 este conceito foi mantido no essencial, embora para a caracterização histológica utilize os conceitos de tipo intestinal e gástrico (cárdico/fúndico) ^{4, 101}. Este conceito, levado ao extremo, resumia o diagnóstico a um aspecto macroscópico do esófago distal e a uma biopsia, suficiente para mostrar epitélio colunar, pois na ausência de lesões importantes de esofagite o aspecto macroscópico é facilmente reconhecido. Assim, estas duas definições pressupõem ou um esforço importante na realização de biopsias para demonstrar a presença de pelo menos uma célula caliciforme (cuja distribuição se sabe não ser uniforme ^{30, 122}, implicando um mínimo de oito biopsias para garantir a sua demonstração em 69% dos casos ¹¹⁶) ou uma atitude muito menos exigente com a realização de uma única biopsia no esófago num quadro endoscópico adequado que mostre um de três possíveis tipos de epitélio colunar ⁴. Os argumentos que fundamentam estas duas definições são de várias ordens. A associação, clássica, do risco de progressão neoplásica à presença de metaplasia intestinal ¹⁵², a que se contrapõe a evidência mais recente de que as células colunares não caliciformes no esófago, no contexto da presença ou não de metaplasia intestinal, têm também diferenciação intestinal ²¹⁷⁻²²⁰ e de que os adenocarcinomas em esófago de Barrett podem ocorrer em zonas sem metaplasia intestinal ^{117, 118}, podendo mesmo esta não ser mais que um epifenómeno ¹¹⁹. Também a observação, feita em algumas grandes séries com uma elevada prevalência de casos sem metaplasia intestinal (50%) na endoscopia índice, que a maioria a veio a desenvolver ao fim de 10 anos (95%) tem sido utilizada para defender a não necessidade da documentação da metaplasia intestinal para estabelecer o diagnóstico ¹¹¹.

Também a observação, em estudos de coorte ou de base populacional, da progressão para displasia de alto grau ou cancro no esófago colunar sem metaplasia intestinal na endoscopia índice ^{11, 111}, é um argumento utilizado pelos que não associam o diagnóstico e o risco de cancro à observação de metaplasia intestinal ⁴. De notar que, nos estudos publicados, a magnitude do risco de adenocarcinoma do esófago foi quer semelhante da ausência ou presença de metaplasia intestinal na endoscopia índice ¹¹¹, quer inferior na sua ausência ^{11, 221}.

Com o trabalho “Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years” demonstrámos que no contexto de um protocolo sistematizado de biopsias, realizadas de acordo com o protocolo de Seattle, a não demonstração de metaplasia intestinal em segmentos de esófago colunar com dois ou mais centímetros é infrequente. Identifica também um grupo de doentes com algumas características clínicas distintas daquele em que a metaplasia intestinal foi evidenciada na primeira ou segunda endoscopias. Nomeadamente, é um grupo de doentes mais jovens, que representa uma percentagem importante do conjunto dos doentes com menos de 40 anos e apenas um número residual após essa idade. O seguimento endoscópico destes doentes veio mostrar que cerca de 60% desenvolveu metaplasia intestinal após um seguimento médio de 7 anos.

Estes resultados demonstram que o aforismo “*no intestinal metaplasia, no cancer*” não pode ser generalizado sob o risco de excluirmos definitivamente da vigilância doentes com esófago colunar sem evidência de metaplasia intestinal, que a vêm a desenvolver posteriormente e a preencher os requisitos considerados pela maioria dos *guidelines* para o diagnóstico de esófago de Barrett ^{2, 3, 5, 222}. Por outro lado, mostram que a prevalência desta entidade num coorte de doentes com esófago revestido por epitélio colunar é baixa (representam menos de 5% do coorte com esófago de Barrett que vigiámos prospectivamente) e muito inferior à prevalência nos estudos referidos anteriormente ^{11, 111, 221}. Esta diferente prevalência de segmentos sem metaplasia intestinal no nosso estudo e em outros anteriores ^{11, 111, 221} pode estar relacionada, entre outras razões, com o esforço endoscópico necessário para estabelecer o diagnóstico com base na demonstração de metaplasia intestinal ou apenas de epitélio colunar. Embora séries provenientes das ilhas Britânicas mostrem que a maioria de casos de displasia e de cancro são diagnosticados no contexto de exames de vigilância programados ²²³, também é em séries com essa proveniência que se observam as taxas de mortalidade mais elevadas por adenocarcinoma do esófago em doentes com esófago de Barrett ²².

Nestes casos de esófago colunar sem metaplasia intestinal, observámos a presença de dois epitélios: cárdico e oxíntico-cárdico. Verificámos, nesta série de doentes adultos, que o epitélio cárdico partilhava características fenotípicas com o esófago de Barrett. Em todos os casos foi observada expressão de vilina e um padrão de expressão das citoqueratinas 7 e 20 de tipo Barrett. Já anteriormente o nosso grupo tinha observado as mesmas características fenotípicas no epitélio cárdico em segmentos de esófago colunar que se desenvolveram acima da anastomose após esofagectomia ²²⁴, bem como expressão de diferenciação intestinal em epitélio cárdico de zonas sem metaplasia intestinal do esófago de Barrett ²¹⁹.

No trabalho “Long segments of columnar-lined lower esophagus are not always metaplastic” relatámos uma série de casos referenciados ao nosso programa de vigilância (n=3) e a outro hospital terciário (n=1) com o diagnóstico de esófago de Barrett. Todos os quatro doentes tinham longos segmentos (entre 5 e 8 centímetros) do esófago distal recobertos por epitélio colunar, que distalmente estavam separados da junção esófago-gástrica por uma estreita faixa de epitélio pavimentoso. As biopsias múltiplas desses segmentos mostraram apenas a presença de mucosa oxíntica. Para além destes 4 casos de heterotopias gástricas extensas no esófago distal, existe apenas o relato de mais um na literatura ²²⁵. Tal como nos nossos casos, as biopsias apenas mostraram a presença de mucosa oxíntica. As heterotopias de mucosa gástrica são muito frequentes no esófago proximal ²²⁶. De acordo com Chandrasoma ¹²³, Barrett ¹ ao desacreditar o conceito de úlceras com origem em mucosa gástrica ectópica no esófago distal, foi o responsável pela inexistência na literatura de referências significativas a “Ilhéus de mucosa gástrica no esófago distal”. A importância desta pequena série de casos reside no facto de eles colidirem com a definição de esófago de Barrett da BSG ^{4, 100} e, sobretudo, da recentemente proposta numa revisão alargada com recomendações para o

manejo do esófago de Barrett ¹⁰⁴. Com efeito, a aplicação estrita desses conceitos permitiria classificar estes casos como esófago de Barrett. Para a BSG ⁴, o esófago de Barrett é definido como um esófago no qual qualquer segmento do revestimento epitelial pavimentoso normal do esófago distal foi substituído por um epitélio colunar metaplásico, que é claramente visível endoscopicamente (≥ 1 cm) acima da junção esófago gástrica e é confirmado histologicamente em biopsias do esófago. Deste conjunto de características, o único que não é possível afirmar nos nossos casos é a sua natureza metaplásica. Que não pode ser baseada em aspectos endoscópicos, mas sim histológicos. Neste campo, os guidelines da BSG estabelecem que deve ser referido no relatório histológico o tipo de mucosa presente (pavimentosa e/ou colunar) e a presença de metaplasia, gástrica (cárdica/fúndica) e intestinal. Os autores estabelecem ainda que deve ser dada particular atenção quando as biopsias apenas mostram mucosa oxíntica/fúndica, pois a presença de mucosa oxíntica pura é um achado raro no esófago de Barrett ²²⁷. Quando tal é observado, deve ser considerada a hipótese das biopsias terem sido efectuadas no cárdia ou em hérnia do hiato. Assim, os critérios endoscópicos e histológicos definidos pela BSG permitiriam classificar estes quatro casos como esófago de Barrett.

Na revisão e recomendações referidas ¹⁰⁴, o esófago de Barrett é definido pela presença de mucosa colunar no esófago (critério endoscópico) e que deverá ser referida (no relatório histopatológico) a existência de metaplasia intestinal acima da junção esófago-gástrica. Contudo, ao contrário da AGA e do ACG, não fazem depender o diagnóstico da sua presença. Uma aplicação estrita desta definição alargaria o diagnóstico de esófago de Barrett a todos os casos de heterotopia gástrica, muito frequentes no esófago proximal mas também não raros no esófago médio e cujo risco de cancro é residual. Os quatro casos relatados neste trabalho cumprem totalmente os critérios definidos nesta publicação ¹⁰⁴ para o diagnóstico de esófago de Barrett.

Então, o que é que permite distinguir as duas entidades? Em primeiro lugar, o facto de as heterotopias não se iniciarem em continuidade com a mucosa gástrica (critério endoscópico), facto que ocorre muito frequentemente no esófago de Barrett (exceptua-se a sua ocorrência sob a forma de pequenos ilhéus, regra geral após regressão sob terapêutica) e não é explícito nas definições anteriores. Em segundo, serem exclusivamente ou maioritariamente constituídas por epitélio oxíntico (fúndico) puro, facto que nunca observámos no esófago de Barrett. Ambas as definições não são claras na definição do esófago de Barrett do ponto de vista histológico, pois admitem, no essencial, que a presença de qualquer tipo de epitélio colunar é compatível com o diagnóstico.

Estamos pois, face aos dados da literatura, perante uma entidade aparentemente rara, cuja maioria dos cinco casos conhecidos foram diagnosticados no nosso centro onde foram referenciados com o diagnóstico de esófago de Barrett. É admissível que casos de

heterotopias do esófago distal estejam a ser classificadas como esófago de Barrett e submetidos a vigilância desnecessárias.

Tradicionalmente, associa-se a especificidade da metaplasia intestinal para suportar do ponto de vista histológico o diagnóstico do esófago de Barrett ao facto de ser um epitélio claramente anormal nesta localização anatómica. Embora se saiba que ela pode ocorrer no estômago proximal e ao nível da junção esófago-gástrica (cárdia). Contudo a metaplasia intestinal que ocorre no esófago é predominantemente de tipo incompleto, enquanto a que ocorre no estômago é preferencialmente de tipo completo.

Num trabalho publicado pelo nosso grupo ¹¹⁵ verificámos a presença de metaplasia intestinal em 25% numa amostra aleatória de indivíduos submetidos a endoscopia alta a quem foram efectuadas biopsias da junção esófago-gástrica endoscopicamente normal e em 61% dos indivíduos com segmentos curtos de esófago revestido por epitélio. As características demográficas, clínicas e histológicas dos 2 grupos sugeriam estarmos perante duas entidades diferentes. Contudo a natureza da metaplasia intestinal da junção esófago-gástrica/cárdia continua a ser motivo de controvérsia ^{228, 229}.

No que respeita ao epitélio cárdico, o mais prevalente no esófago de Barrett e no esófago revestido por epitélio colunar sem metaplasia intestinal, a sua natureza e significado continuam controversos. Se a sua ocorrência enquanto epitélio metaplásico é inquestionável ^{224, 230, 231}, a sua eventual natureza congénita ao nível da porção mais proximal do estômago continua a ser motivo de intensa discussão ^{132, 227}. Para uns, ele decorre sempre de uma resposta adaptativa do esófago distal ao refluxo gastro-esofágico e como tal, é sempre de natureza metaplásica ⁹⁴. Para outros, ele é uma estrutura normal ao nível da junção esófago-gástrica (cárdia), que normalmente não ultrapassa os 4 mm de extensão, e que pode ser sede de expansão proximal para o esófago, em consequência do refluxo gastro-esofágico, ou distal, menos frequente, para o estômago, geralmente associada à infecção pelo *Helicobacter pylori* ¹⁰⁰. Existe evidência da diferenciação do epitélio cárdico em epitélio intestinal, e que a expressão de MUC2 nas células colunares não caliciformes do esófago revestido por epitélio colunar pode representar um evento bioquímico tardio na conversão de células colunares mucosas em caliciformes ²³². No nosso grupo, demonstrámos anteriormente que o epitélio cárdico no adulto, no contexto da recorrência de esófago colunar após esofagectomia e de esófago recoberto por epitélio colunar sem metaplasia intestinal, não expressava MUC2, mas apresentava outras características fenotípicas de diferenciação intestinal, nomeadamente expressão de vilina ^{220, 224, 233}. A diferenciação intestinal do epitélio cárdico foi também demonstrada por outros autores ^{217, 234, 235}. Observámos também uma expressão das citoqueratinas 7 e 20 de tipo Barrett ²³³, já anteriormente descrita ^{133, 134}.

No trabalho “Characteristics of cardiac epithelium at the esophagogastric junction of a pediatric population with gastroesophageal reflux” procurámos avaliar se o epitélio cárdico na idade pediátrica partilhava características fenotípicas com o do adulto e com o esófago de

Barrett, para o que utilizámos biopsias de arquivo da junção esófago-gástrica de crianças com doença do refluxo. Os resultados obtidos, expressão quase universal de vilina, padrão tipo Barrett da expressão das citoqueratinas 7 e 20 em todos os casos e ausência de expressão de MUC2 e de sucrase-isomaltase, mostraram que o epitélio cárdico nas crianças tem características de diferenciação intestinal semelhantes ao do adulto. Por o epitélio tipo cárdico estudado ter sido obtido por biopsia em junções endoscopicamente normais, não é possível saber o seu carácter metaplásico ou congénito. De qualquer modo, estabelecemos que a diferenciação intestinal críptica do epitélio cárdico é um fenómeno muito precoce. Estudar a diferenciação intestinal deste epitélio num modelo onde seja possível identificá-lo e obter ainda mais precocemente, pode ser um contributo para a compreensão da sua natureza.

8. Conclusões

Os resultados dos trabalhos de investigação realizados no âmbito da Tese, especificamente discutidos em cada um deles e integrados na discussão final desenvolvida no capítulo anterior permitem as seguintes conclusões em relação aos objectivos a que nos propusemos:

1. O baixo risco de adenocarcinoma e displasia de alto grau/adenocarcinoma na população portuguesa com esófago de Barrett aconselha uma reavaliação dos intervalos de vigilância actualmente propostos pelos *guidelines* e seguidos no nosso país, nomeadamente em relação aos segmentos curtos onde intervalos mínimos de cinco anos parecem seguros, tendo em consideração o risco observado.
2. O elevado risco de progressão para displasia de alto grau ou adenocarcinoma observada nos doentes em que dois ou mais patologistas concordaram com o diagnóstico prévio de displasia de baixo grau legitima a aplicação no nosso país da indicação para terapêuticas ablativas endoscópicas.
3. As definições e conceitos operacionais de diagnóstico do esófago de Barrett actualmente em vigor, decorrentes dos diferentes *guidelines* publicados, excluem da vigilância, por um lado, doentes com risco de adenocarcinoma do esófago. Por outro, facilitam a inclusão em vigilância de doentes com heterotopias de mucosa gástrica do esófago distal, cujo risco de adenocarcinoma é, a existir, mínimo. A necessária discussão em torno desta questão, tem de ter em conta que no contexto de um protocolo sistemático de biopsias, os primeiros representam um pequeno grupo de doentes.

9. Bibliografía

1. Barrett NR. Chronic peptic ulcer of the oesophagus and 'oesophagitis'. *Br J Surg* 1950;38:175-82.
2. Wang KK, Sampliner RE. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2008;103:788-97.
3. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, et al. American Gastroenterological Association medical position statement on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;140:1084-91.
4. Fitzgerald RC, di Pietro M, Ragnauth K, et al. British Society of Gastroenterology guidelines on the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut* 2014;63:7-42.
5. Whiteman DC, Appleyard M, Bahin FF, et al. Australian clinical practice guidelines for the diagnosis and management of Barrett's Esophagus and Early Esophageal Adenocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2015.
6. Boyer J, Laugier R, Chemali M, et al. French Society of Digestive Endoscopy SFED guideline: monitoring of patients with Barrett's esophagus. *Endoscopy* 2007;39:840-2.
7. Takubo K, Vieth M, Aida J, et al. Differences in the definitions used for esophageal and gastric diseases in different countries: endoscopic definition of the esophagogastric junction, the precursor of Barrett's adenocarcinoma, the definition of Barrett's esophagus, and histologic criteria for mucosal adenocarcinoma or high-grade dysplasia. *Digestion* 2009;80:248-57.
8. Robertson CS, Mayberry JF, Nicholson DA, et al. Value of endoscopic surveillance in the detection of neoplastic change in Barrett's oesophagus. *Br J Surg* 1988;75:760-3.
9. Hameeteman W, Tytgat GN, Houthoff HJ, et al. Barrett's esophagus: development of dysplasia and adenocarcinoma. *Gastroenterology* 1989;96:1249-56.
10. Reid BJ, Blount PL, Rubin CE, et al. Flow-cytometric and histological progression to malignancy in Barrett's esophagus: prospective endoscopic surveillance of a cohort. *Gastroenterology* 1992;102:1212-9.
11. Bhat S, Coleman HG, Yousef F, et al. Risk of malignant progression in Barrett's esophagus patients: results from a large population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:1049-57.
12. Hvid-Jensen F, Pedersen L, Drewes AM, et al. Incidence of adenocarcinoma among patients with Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 2011;365:1375-83.
13. Drewitz DJ, Sampliner RE, Garewal HS. The incidence of adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a prospective study of 170 patients followed 4.8 years. *Am J Gastroenterol* 1997;92:212-5.

14. Spechler SJ, Robbins AH, Rubins HB, et al. Adenocarcinoma and Barrett's esophagus. An overrated risk? *Gastroenterology* 1984;87:927-33.
15. Botterweck AA, Schouten LJ, Volovics A, et al. Trends in incidence of adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia in ten European countries. *Int J Epidemiol* 2000;29:645-54.
16. Bhat SK, McManus DT, Coleman HG, et al. Oesophageal adenocarcinoma and prior diagnosis of Barrett's oesophagus: a population-based study. *Gut* 2015;64:20-5.
17. Wong T, Tian J, Nagar AB. Barrett's surveillance identifies patients with early esophageal adenocarcinoma. *Am J Med* 2010;123:462-7.
18. Verbeek RE, Leenders M, Ten Kate FJ, et al. Surveillance of Barrett's esophagus and mortality from esophageal adenocarcinoma: a population-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1215-22.
19. Grant KS, DeMeester SR, Kreger V, et al. Effect of Barrett's esophagus surveillance on esophageal preservation, tumor stage, and survival with esophageal adenocarcinoma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2013;146:31-7.
20. Sikkema M, de Jonge PJ, Steyerberg EW, et al. Risk of esophageal adenocarcinoma and mortality in patients with Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:235-44; quiz e32.
21. Schouten LJ, Steevens J, Huysentruyt CJ, et al. Total cancer incidence and overall mortality are not increased among patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:754-61.
22. Caygill CP, Royston C, Charlett A, et al. Mortality in Barrett's esophagus: three decades of experience at a single center. *Endoscopy* 2012;44:892-8.
23. Bennett C, Vakil N, Bergman J, et al. Consensus statements for management of Barrett's dysplasia and early-stage esophageal adenocarcinoma, based on a Delphi process. *Gastroenterology* 2012;143:336-46.
24. Goldblum JR. Controversies in the diagnosis of Barrett esophagus and Barrett-related dysplasia: one pathologist's perspective. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:1479-84.
25. Sul ROR. Incidência, Sobrevivência e Mortalidade por cancro na região sul de Portugal - ISM 2008 | 2009. Lisboa: Registo Oncológico Regional Sul, 2014.
26. Tileston W. Peptic ulcer of the esophagus. *Am J Med Sci* 1906;132:240-65.
27. Allison PR. Peptic ulcer of the oesophagus. *Thorax* 1948;3:20-42.
28. Lortat-Jacob JL. L'endo-brachy-oesophage. *Annales de Chir* 1957;11:1247-55.
29. Barrett NR. The lower esophagus lined by columnar epithelium. *Surgery* 1957;41:881-94.

30. Paull A, Trier JS, Dalton MD, et al. The histologic spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med* 1976;295:476-80.
31. Morson BC, Belcher JR. Adenocarcinoma of the oesophagus and ectopic gastric mucosa. *Br J Cancer* 1952;6:127-30.
32. Haggitt RC, Tryzelaar J, Ellis FH, et al. Adenocarcinoma complicating columnar epithelium-lined (Barrett's) esophagus. *Am J Clin Pathol* 1978;70:1-5.
33. Haggitt RC. Adenocarcinoma in Barrett's esophagus: a new epidemic? *Hum Pathol* 1992;23:475-6.
34. Stewart MJ, Hartfall SJ. Chronic peptic ulcer of the oesophagus. *J. Pathol.* 1929;32:9-14.
35. Lyall A. Chronic peptic ulcer of the oesophagus: a report of eight cases. *Br J Surg* 1937;24:534-47.
36. Lortat-Jacob JL. Les maladies peptiques de l'oesophage. *J Int Chir* 1951;11:152-75.
37. Lortat-Jacob JL. Sept cas d'ulcere de l'oesophage. *Mem Acad Chir (Paris)* 1951;77:829-37.
38. Lortat-Jacob JL. *Chirurgie de l'oesophage*. Paris: Editions Médicales Flammarion, 1951.
39. Boshier LH, Taylor FH. Heterotopic gastric mucosa in the esophagus with ulceration and stricture formation. *J Thorac Surg* 1951;21:306-12.
40. Allison PR, Johnstone AS. The oesophagus lined with gastric mucous membrane. *Thorax* 1953;8:87-101.
41. Da Silva M. [Etiology and pathogenesis of peptic ulcer of the esophagus with short esophagus and partially intra-thoracic stomach]. *Rev Port Med Mil* 1953;1:317-24.
42. Belsey R. Peptic ulcer of the oesophagus. *Ann R Coll Surg Engl* 1954;14:303-22.
43. Mahassen M. [The esophagus lined with gastric mucosa and esophageal ulceration]. *Rev Chir* 1955;74:137-47.
44. Som ML, Wolf BS. Peptic ulcer of the esophagus and esophagitis in gastric-lined esophagus. *J Am Med Assoc* 1956;162:641-4.
45. Barrett NR. The oesophagus lined by columnar epithelium. *Gastroenterologia* 1956;86:183-6.
46. Spechler SJ, Goyal RK. The columnar-lined esophagus, intestinal metaplasia, and Norman Barrett. *Gastroenterology* 1996;110:614-21.
47. Bani-Hani KE, Bani-Hani BK. Columnar-lined esophagus: time to drop the eponym of "Barrett": Historical review. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23:707-15.

48. Lortat Jacob JL. What is the definition of Barrett's esophagus? In: Giuli RaM, R. W., ed. Benign lesions of the esophagus and cancer. Berlin: Sprin-Verlag, 1989:619-20.
49. Wolf BS, Marshak RH, Som ML, et al. Peptic esophagitis, peptic ulcer of the esophagus and marginal esophagogastric ulceration. *Gastroenterology* 1955;29:744-66.
50. Cohen BR, Wolf BS, Som M, et al. Correlation of Manometric, Oesophagosopic, and Radiological Findings in the Columnar-Lined Gullet (Barrett Syndrome). *Gut* 1963;4:406-12.
51. Goldman MC, Beckman RC. Barrett syndrome. Case report with discussion about concepts of pathogenesis. *Gastroenterology* 1960;39:104-10.
52. Mossberg SM. The columnar-lined esophagus (Barrett syndrome)--an acquired condition? *Gastroenterology* 1966;50:671-6.
53. Adler RH. The lower esophagus lined by columnar epithelium. Its association with hiatal hernia, ulcer, stricture, and tumor. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1963;45:13-34.
54. Borrie J, Goldwater L. Columnar cell-lined esophagus: assessment of etiology and treatment. A 22 year experience. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1976;71:825-34.
55. Corrin B, Harrison GK, Johnson HR. High oesophageal stricture with hiatal hernia and a lower oesophagus lined by columnar epithelium. *Thorax* 1970;25:89-90.
56. van de Kerckhof J, Gahagan T. Regeneration of the mucosal lining of the esophagus. *Henry Ford Hosp Med Bull* 1963;11:129-34.
57. Hennessy TP, Edlich RF, Buchin RJ, et al. Influence on gastroesophageal incompetence on regeneration of esophageal mucosa. *Arch Surg* 1968;97:105-7.
58. Bremner CG, Lynch VP, Ellis FH, Jr. Barrett's esophagus: congenital or acquired? An experimental study of esophageal mucosal regeneration in the dog. *Surgery* 1970;68:209-16.
59. Hayward J. The lower end of the oesophagus. *Thorax* 1961;16:36-41.
60. McCorkle RG, Blades B. Adenocarcinoma of the esophagus arising in aberrant gastric mucosa. *Am Surg* 1955;21:781-5.
61. Smithers DW. Adenocarcinoma of the oesophagus. *Thorax* 1956;11:257-67.
62. Dodge OG. Intraoesophageal adenocarcinoma. *Gut* 1960;1:351-6.
63. Raphael HA, Ellis FH, Jr., Dockerty MB. Primary adenocarcinoma of the esophagus: 18-year review and review of literature. *Ann Surg* 1966;164:785-96.
64. Lortat-Jacob JL, Maillard JN, Richard CA, et al. Primary esophageal adenocarcinoma: report of 16 cases. *Surgery* 1968;64:535-43.

65. Hawe A, Payne WS, Weiland LH, et al. Adenocarcinoma in the columnar epithelial lined lower (Barrett) oesophagus. *Thorax* 1973;28:511-4.
66. Poleyndard GD, Marty AT, Birnbaum WB, et al. Adenocarcinoma in the columnar-lined (Barrett) esophagus. Case report and review of the literature. *Arch Surg* 1977;112:997-1000.
67. Berenson MM, Riddell RH, Skinner DB, et al. Malignant transformation of esophageal columnar epithelium. *Cancer* 1978;41:554-61.
68. Thomas JV, Hay LJ. Adenocarcinoma of the esophagus; report of a case of glandular metaplasia of the esophageal mucosa. *Surgery* 1954;35:635-9.
69. Wei JT, Shaheen N. The changing epidemiology of esophageal adenocarcinoma. *Semin Gastrointest Dis* 2003;14:112-27.
70. Lagergren J. Adenocarcinoma of oesophagus: what exactly is the size of the problem and who is at risk? *Gut* 2005;54 Suppl 1:i1-5.
71. Pera M, Manterola C, Vidal O, et al. Epidemiology of esophageal adenocarcinoma. *J Surg Oncol* 2005;92:151-9.
72. van Blankenstein M, Looman CW, Siersema PD, et al. Trends in the incidence of adenocarcinoma of the oesophagus and cardia in the Netherlands 1989-2003. *Br J Cancer* 2007;96:1767-71.
73. Brown LM, Devesa SS, Chow WH. Incidence of adenocarcinoma of the esophagus among white Americans by sex, stage, and age. *J Natl Cancer Inst* 2008;100:1184-7.
74. Bosetti C, Levi F, Ferlay J, et al. Trends in oesophageal cancer incidence and mortality in Europe. *Int J Cancer* 2008;122:1118-29.
75. Pohl H, Sirovich B, Welch HG. Esophageal adenocarcinoma incidence: are we reaching the peak? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:1468-70.
76. Abrams JA, Sharaiha RZ, Gonsalves L, et al. Dating the rise of esophageal adenocarcinoma: analysis of Connecticut Tumor Registry data, 1940-2007. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:183-6.
77. Rutegard M, Lagergren P, Nordenstedt H, et al. Oesophageal adenocarcinoma: the new epidemic in men? *Maturitas* 2011;69:244-8.
78. Skinner DB, Walther BC, Riddell RH, et al. Barrett's esophagus. Comparison of benign and malignant cases. *Ann Surg* 1983;198:554-65.
79. Bozymski EM, Herlihy KJ, Orlando RC. Barrett's esophagus. *Ann Intern Med* 1982;97:103-7.
80. Sjogren RW, Jr., Johnson LF. Barrett's esophagus: a review. *Am J Med* 1983;74:313-21.

81. Stemmer EA, Adams WE. The incidence of carcinoma at the esophagogastric junction in short esophagus. *Arch Surg* 1960;81:771-80.
82. Naef AP, Savary M, Ozzello L. Columnar-lined lower esophagus: an acquired lesion with malignant predisposition. Report on 140 cases of Barrett's esophagus with 12 adenocarcinomas. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1975;70:826-35.
83. Cameron AJ, Ott BJ, Payne WS. Barrett esophagus: incidence of adenocarcinoma during long term follow up. *Gut* 1983;24:A1007-8.
84. Cameron AJ, Ott BJ, Payne WS. The incidence of adenocarcinoma in columnar-lined (Barrett's) esophagus. *N Engl J Med* 1985;313:857-9.
85. Spechler SJ. Barrett esophagus and risk of esophageal cancer: a clinical review. *JAMA* 2013;310:627-36.
86. Wheeler JB, Reed CE. Epidemiology of esophageal cancer. *Surg Clin North Am* 2012;92:1077-87.
87. Kroep S, Lansdorp-Vogelaar I, Rubenstein JH, et al. Comparing trends in esophageal adenocarcinoma incidence and lifestyle factors between the United States, Spain, and the Netherlands. *Am J Gastroenterol* 2014;109:336-43; quiz 335, 344.
88. Edgren G, Adami HO, Weiderpass E, et al. A global assessment of the oesophageal adenocarcinoma epidemic. *Gut* 2013.
89. Drahos J, Wu M, Anderson WF, et al. Regional variations in esophageal cancer rates by census region in the United States, 1999-2008. *PLoS One* 2013;8:e67913.
90. McClave SA, Boyce HW, Jr., Gottfried MR. Early diagnosis of columnar-lined esophagus: a new endoscopic diagnostic criterion. *Gastrointest Endosc* 1987;33:413-6.
91. Rothery GA, Patterson JE, Stoddard CJ, et al. Histological and histochemical changes in the columnar lined (Barrett's) oesophagus. *Gut* 1986;27:1062-8.
92. DeMeester SR, DeMeester TR. Columnar mucosa and intestinal metaplasia of the esophagus: fifty years of controversy. *Ann Surg* 2000;231:303-21.
93. Spechler SJ, Zeroogian JM, Antonioli DA, et al. Prevalence of metaplasia at the gastro-oesophageal junction. *Lancet* 1994;344:1533-6.
94. Weinstein WM, Ippoliti AF. The diagnosis of Barrett's esophagus: goblets, goblets, goblets. *Gastrointest Endosc* 1996;44:91-5.
95. Spechler SJ, Sharma P, Souza RF, et al. American Gastroenterological Association technical review on the management of Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;140:e18-52; quiz e13.
96. Sharma P, McQuaid K, Dent J, et al. A critical review of the diagnosis and management of Barrett's esophagus: the AGA Chicago Workshop. *Gastroenterology* 2004;127:310-30.

97. Sampliner RE. Practice guidelines on the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 1998;93:1028-32.
98. Sampliner RE. Updated guidelines for the diagnosis, surveillance, and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1888-95.
99. Sharma P, Dent J, Armstrong D, et al. The development and validation of an endoscopic grading system for Barrett's esophagus: the Prague C & M criteria. *Gastroenterology* 2006;131:1392-9.
100. Guidelines for the diagnosis and management of Barrett's columnar lined oesophagus. A report of the working party of the British Society of Gastroenterology. <http://www.bsg.org.uk> (acesso 17 de Janeiro de 2015).
101. Playford RJ. New British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut* 2006;55:442.
102. Aoki T. Report of research committee on definition of Barrett's esophagus. In: Sugimachi K, ed. Reports on research committees of Japanese research society of esophageal diseases. Chiba: Japanese Society of Esophageal Diseases, 2000:20-23.
103. Takubo K, Aida J, Sawabe M, et al. The normal anatomy around the oesophagogastric junction: a histopathologic view and its correlation with endoscopy. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2008;22:569-83.
104. Bennett C, Moayyedi P, Corley DA, et al. BOB CAT: a Large-Scale Review and Delphi Consensus for Management of Barrett's Esophagus With No Dysplasia, Indefinite for, or Low-Grade Dysplasia. *Am J Gastroenterol* 2015;110:662-682.
105. Shaheen NJ, Crosby MA, Bozyski EM, et al. Is there publication bias in the reporting of cancer risk in Barrett's esophagus? *Gastroenterology* 2000;119:333-8.
106. Thomas T, Abrams KR, De Caestecker JS, et al. Meta analysis: Cancer risk in Barrett's oesophagus. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:1465-77.
107. Yousef F, Cardwell C, Cantwell MM, et al. The incidence of esophageal cancer and high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol* 2008;168:237-49.
108. Wani S, Puli SR, Shaheen NJ, et al. Esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus after endoscopic ablative therapy: a meta-analysis and systematic review. *Am J Gastroenterol* 2009;104:502-13.
109. Desai TK, Krishnan K, Samala N, et al. The incidence of oesophageal adenocarcinoma in non-dysplastic Barrett's oesophagus: a meta-analysis. *Gut* 2012;61:970-6.
110. Kelty CJ, Gough MD, Van Wyk Q, et al. Barrett's oesophagus: intestinal metaplasia is not essential for cancer risk. *Scand J Gastroenterol* 2007;42:1271-4.

111. Gatenby PA, Ramus JR, Caygill CP, et al. Relevance of the detection of intestinal metaplasia in non-dysplastic columnar-lined oesophagus. *Scand J Gastroenterol* 2008;43:524-30.
112. Oberg S, Peters JH, DeMeester TR, et al. Determinants of intestinal metaplasia within the columnar-lined esophagus. *Arch Surg* 2000;135:651-5; discussion 655-6.
113. Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, et al. Histologic classification of patients based on mapping biopsies of the gastroesophageal junction. *Am J Surg Pathol* 2003;27:929-36.
114. Westerhoff M, Hovan L, Lee C, et al. Effects of dropping the requirement for goblet cells from the diagnosis of Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:1232-6.
115. Pereira AD, Suspiro A, Chaves P, et al. Short segments of Barrett's epithelium and intestinal metaplasia in normal appearing oesophagogastric junctions: the same or two different entities? *Gut* 1998;42:659-62.
116. Harrison R, Perry I, Haddadin W, et al. Detection of intestinal metaplasia in Barrett's esophagus: an observational comparator study suggests the need for a minimum of eight biopsies. *Am J Gastroenterol* 2007;102:1154-61.
117. Takubo K, Aida J, Naomoto Y, et al. Cardiac rather than intestinal-type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2009;40:65-74.
118. Aida J, Vieth M, Shepherd NA, et al. Is Carcinoma in Columnar-lined Esophagus Always Located Adjacent to Intestinal Metaplasia?: A Histopathologic Assessment. *Am J Surg Pathol* 2015;39:188-96.
119. Watanabe G, Ajioka Y, Takeuchi M, et al. Intestinal metaplasia in Barrett's oesophagus may be an epiphenomenon rather than a preneoplastic condition, and CDX2-positive cardiac-type epithelium is associated with minute Barrett's tumour. *Histopathology* 2015;66:201-14.
120. Riddell RH, Odze RD. Definition of Barrett's esophagus: time for a rethink--is intestinal metaplasia dead? *Am J Gastroenterol* 2009;104:2588-94.
121. Spechler SJ. Barrett's esophagus: is the goblet half empty? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012;10:1237-8.
122. Chandrasoma PT, Der R, Dalton P, et al. Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus. *Am J Surg Pathol* 2001;25:1188-93.
123. Chandrasoma P, DeMeester TR. *GERD: From Reflux to Esophageal Adenocarcinoma*. Burlington, Massachusetts: Academic Press, 2006.
124. Chandrasoma PT, Der R, Ma Y, et al. Histology of the gastroesophageal junction: an autopsy study. *Am J Surg Pathol* 2000;24:402-9.

125. Park YS, Park HJ, Kang GH, et al. Histology of gastroesophageal junction in fetal and pediatric autopsy. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:451-5.
126. Sarbia M, Donner A, Gabbert HE. Histopathology of the gastroesophageal junction: a study on 36 operation specimens. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1207-12.
127. Kilgore SP, Ormsby AH, Gramlich TL, et al. The gastric cardia: fact or fiction? *Am J Gastroenterol* 2000;95:921-4.
128. Derdoy JJ, Bergwerk A, Cohen H, et al. The gastric cardia: to be or not to be? *Am J Surg Pathol* 2003;27:499-504.
129. Zhou H, Greco MA, Daum F, et al. Origin of cardiac mucosa: ontogenic consideration. *Pediatr Dev Pathol* 2001;4:358-63.
130. Glickman JN, Fox V, Antonioli DA, et al. Morphology of the cardia and significance of carditis in pediatric patients. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1032-9.
131. Marsman WA, van Sandick JW, Tytgat GN, et al. The presence and mucin histochemistry of cardiac type mucosa at the esophagogastric junction. *Am J Gastroenterol* 2004;99:212-7.
132. Odze RD. Unraveling the mystery of the gastroesophageal junction: a pathologist's perspective. *Am J Gastroenterol* 2005;100:1853-67.
133. Glickman JN, Wang H, Das KM, et al. Phenotype of Barrett's esophagus and intestinal metaplasia of the distal esophagus and gastroesophageal junction: an immunohistochemical study of cytokeratins 7 and 20, Das-1 and 45 MI. *Am J Surg Pathol* 2001;25:87-94.
134. DeMeester SR, Wickramasinghe KS, Lord RV, et al. Cytokeratin and DAS-1 immunostaining reveal similarities among cardiac mucosa, CIM, and Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2002;97:2514-23.
135. Lord RV, Wickramasinghe K, Johansson JJ, et al. Cardiac mucosa in the remnant esophagus after esophagectomy is an acquired epithelium with Barrett's-like features. *Surgery* 2004;136:633-40.
136. Chaves P, Cruz C, Dias Pereira A, et al. Gastric and intestinal differentiation in Barrett's metaplasia and associated adenocarcinoma. *Dis Esophagus* 2005;18:383-7.
137. Desai TK, Samala N. The incidence of esophageal adenocarcinoma among patients with nondysplastic Barrett's esophagus has been overestimated. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:363-4; author reply 364-5.
138. Edwards MJ, Gable DR, Lentsch AB, et al. The rationale for esophagectomy as the optimal therapy for Barrett's esophagus with high-grade dysplasia. *Ann Surg* 1996;223:585-9; discussion 589-91.

139. Reed MF, Tolis G, Jr., Edil BH, et al. Surgical treatment of esophageal high-grade dysplasia. *Ann Thorac Surg* 2005;79:1110-5; discussion 1110-5.
140. Konda VJ, Ross AS, Ferguson MK, et al. Is the risk of concomitant invasive esophageal cancer in high-grade dysplasia in Barrett's esophagus overestimated? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008;6:159-64.
141. Picardo SL, O'Brien MP, Feighery R, et al. A Barrett's esophagus registry of over 1000 patients from a specialist center highlights greater risk of progression than population-based registries and high risk of low grade dysplasia. *Dis Esophagus* 2015;28:121-6.
142. Shakhatreh MH, Duan Z, Kramer J, et al. The incidence of esophageal adenocarcinoma in a national veterans cohort with Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2014;109:1862-8; quiz 1861, 1869.
143. Cooper S, Menon S, Nightingale P, et al. Risk factors for the development of oesophageal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: a UK primary care retrospective nested case-control study. *United European Gastroenterol J* 2014;2:91-8.
144. Rugge M, Zaninotto G, Parente P, et al. Barrett's esophagus and adenocarcinoma risk: the experience of the North-Eastern Italian Registry (EBRA). *Ann Surg* 2012;256:788-94; discussion 794-5.
145. Sharma P, Falk GW, Weston AP, et al. Dysplasia and cancer in a large multicenter cohort of patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:566-72.
146. Wani S, Falk G, Hall M, et al. Patients with nondysplastic Barrett's esophagus have low risks for developing dysplasia or esophageal adenocarcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:220-7; quiz e26.
147. von Rahden BH, Stein HJ, Weber A, et al. Critical reappraisal of current surveillance strategies for Barrett's esophagus: analysis of a large German Barrett's database. *Dis Esophagus* 2008;21:685-9.
148. Nguyen DM, El-Serag HB, Henderson L, et al. Medication usage and the risk of neoplasia in patients with Barrett's esophagus. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:1299-304.
149. Wani S. Population-based estimates of cancer and mortality in Barrett's esophagus: implications for the future. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011;9:723-4.
150. di Pietro M, O'Donovan M, Fitzgerald RC. Where is the truth when it comes to cancer risk in Barrett's esophagus? *Gastroenterology* 2012;142:1245-7.
151. Lenglinger J, Riegler M, Cosentini E, et al. Review on the annual cancer risk of Barrett's esophagus in persons with symptoms of gastroesophageal reflux disease. *Anticancer Res* 2012;32:5465-73.
152. Haggitt RC. Barrett's esophagus, dysplasia, and adenocarcinoma. *Hum Pathol* 1994;25:982-93.

153. Riddell RH, Goldman H, Ransohoff DF, et al. Dysplasia in inflammatory bowel disease: standardized classification with provisional clinical applications. *Hum Pathol* 1983;14:931-68.
154. Montgomery E, Goldblum JR, Greenson JK, et al. Dysplasia as a predictive marker for invasive carcinoma in Barrett esophagus: a follow-up study based on 138 cases from a diagnostic variability study. *Hum Pathol* 2001;32:379-88.
155. Goldblum JR, Lauwers GY. Dysplasia arising in Barrett's esophagus: diagnostic pitfalls and natural history. *Semin Diagn Pathol* 2002;19:12-9.
156. Reid BJ, Haggitt RC, Rubin CE, et al. Observer variation in the diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. *Hum Pathol* 1988;19:166-78.
157. Goldblum JR. Barrett's esophagus and Barrett's-related dysplasia. *Mod Pathol* 2003;16:316-24.
158. Montgomery E, Bronner MP, Goldblum JR, et al. Reproducibility of the diagnosis of dysplasia in Barrett esophagus: a reaffirmation. *Hum Pathol* 2001;32:368-78.
159. Schnell TG, Sontag SJ, Chejfec G, et al. Long-term nonsurgical management of Barrett's esophagus with high-grade dysplasia. *Gastroenterology* 2001;120:1607-19.
160. Lim CH, Treanor D, Dixon MF, et al. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus has a high risk of progression. *Endoscopy* 2007;39:581-7.
161. Gatenby P, Ramus J, Caygill C, et al. Routinely diagnosed low-grade dysplasia in Barrett's oesophagus: a population-based study of natural history. *Histopathology* 2009;54:814-9.
162. Curvers WL, ten Kate FJ, Krishnadath KK, et al. Low-grade dysplasia in Barrett's esophagus: overdiagnosed and underestimated. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1523-30.
163. Wani S, Falk GW, Post J, et al. Risk factors for progression of low-grade dysplasia in patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2011;141:1179-86, 1186 e1.
164. Jung KW, Talley NJ, Romero Y, et al. Epidemiology and natural history of intestinal metaplasia of the gastroesophageal junction and Barrett's esophagus: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1447-55; quiz 1456.
165. Duits LC, Phoa KN, Curvers WL, et al. Barrett's oesophagus patients with low-grade dysplasia can be accurately risk-stratified after histological review by an expert pathology panel. *Gut* 2014.
166. Thota PN, Lee HJ, Goldblum JR, et al. Risk Stratification of Patients With Barrett's Esophagus and Low-grade Dysplasia or Indefinite for Dysplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014.

167. Singh S, Manickam P, Amin AV, et al. Incidence of esophageal adenocarcinoma in Barrett's esophagus with low-grade dysplasia: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2014;79:897-909 e4; quiz 983 e1, 983 e3.
168. Younes M, Lauwers GY, Ertan A, et al. The significance of "indefinite for dysplasia" grading in Barrett metaplasia. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:430-2.
169. Kestens C, Leenders M, Offerhaus GJ, et al. Risk of neoplastic progression in Barrett's esophagus diagnosed as indefinite for dysplasia: a nationwide cohort study. *Endoscopy* 2014.
170. Horvath B, Singh P, Xie H, et al. Risk for esophageal neoplasia in Barrett's esophagus patients with mucosal changes indefinite for dysplasia. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30:262-7.
171. Pereira AD, Chaves P, Suspiro A, et al. Esófago de Barrett: Resultado de um Programa de Vigilância. *GE J Port Gastreterol* 1999;6:164-72.
172. Serrano M, Mão de Ferro S, Chaves P, et al. Endoscopic resection combined with radiofrequency ablation for early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *GE J Port Gastreterol* 2013;20:183-5.
173. Caygill CP, Zaninotto G, Ruge M. Barrett's Registries in Europe: report of an International Workshop. *Eur J Cancer Prev* 2008;17:426-9.
174. Provenzale D, Schmitt C, Wong JB. Barrett's esophagus: a new look at surveillance based on emerging estimates of cancer risk. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2043-53.
175. Inadomi JM, Sampliner R, Lagergren J, et al. Screening and surveillance for Barrett esophagus in high-risk groups: a cost-utility analysis. *Ann Intern Med* 2003;138:176-86.
176. Wright TA, Gray MR, Morris AI, et al. Cost effectiveness of detecting Barrett's cancer. *Gut* 1996;39:574-9.
177. Sonnenberg A, Soni A, Sampliner RE. Medical decision analysis of endoscopic surveillance of Barrett's oesophagus to prevent oesophageal adenocarcinoma. *Aliment Pharmacol Ther* 2002;16:41-50.
178. Barbieri JM, Lyratzopoulos G. Cost-effectiveness of endoscopic screening followed by surveillance for Barrett's esophagus: a review. *Gastroenterology* 2009;137:1869-76.
179. Kastelein F, van Olphen S, Steyerberg EW, et al. Surveillance in patients with long-segment Barrett's oesophagus: a cost-effectiveness analysis. *Gut* 2014.
180. Gordon LG, Mayne GC, Hirst NG, et al. Cost-effectiveness of endoscopic surveillance of non-dysplastic Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2014;79:242-56 e6.
181. Shaheen NJ, Sharma P, Overholt BF, et al. Radiofrequency ablation in Barrett's esophagus with dysplasia. *N Engl J Med* 2009;360:2277-88.

182. Rastogi A, Puli S, El-Serag HB, et al. Incidence of esophageal adenocarcinoma in patients with Barrett's esophagus and high-grade dysplasia: a meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2008;67:394-8.
183. Nandurkar S, Talley NJ. Barrett's esophagus: the long and the short of it. *Am J Gastroenterol* 1999;94:30-40.
184. Gaddam S, Singh M, Balasubramanian G, et al. Persistence of Nondysplastic Barrett's Esophagus Identifies Patients at Lower Risk for Esophageal Adenocarcinoma: Results From a Large Multicenter Cohort. *Gastroenterology* 2013;145:548-553 e1.
185. Vaezi MF, Kahrilas PJ. Barrett's Esophagus Surveillance: Time to Rethink if One Size Fits All? *Gastroenterology* 2013;145:503-5.
186. Old O, Moayyedi P, Love S, et al. Barrett's Oesophagus Surveillance versus endoscopy at need Study (BOSS): protocol and analysis plan for a multicentre randomized controlled trial. *J Med Screen* 2015.
187. Kastelein F, van Olphen SH, Steyerberg EW, et al. Impact of surveillance for Barrett's oesophagus on tumour stage and survival of patients with neoplastic progression. *Gut* 2015.
188. Rubenstein JH, Sonnenberg A, Davis J, et al. Effect of a prior endoscopy on outcomes of esophageal adenocarcinoma among United States veterans. *Gastrointest Endosc* 2008;68:849-55.
189. Corley DA, Mehtani K, Quesenberry C, et al. Impact of endoscopic surveillance on mortality from Barrett's esophagus-associated esophageal adenocarcinomas. *Gastroenterology* 2013;145:312-9 e1.
190. Sikkema M, Looman CW, Steyerberg EW, et al. Predictors for neoplastic progression in patients with Barrett's Esophagus: a prospective cohort study. *Am J Gastroenterol* 2011;106:1231-8.
191. Pohl H, Wrobel K, Bojarski C, et al. Risk factors in the development of esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2013;108:200-7.
192. Hardikar S, Onstad L, Blount PL, et al. The role of tobacco, alcohol, and obesity in neoplastic progression to esophageal adenocarcinoma: a prospective study of Barrett's esophagus. *PLoS One* 2013;8:e52192.
193. Prasad GA, Bansal A, Sharma P, et al. Predictors of progression in Barrett's esophagus: current knowledge and future directions. *Am J Gastroenterol* 2010;105:1490-1502.
194. Andrici J, Cox MR, Eslick GD. Cigarette smoking and the risk of Barrett's esophagus: a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013;28:1258-73.

195. Coleman HG, Bhat S, Johnston BT, et al. Tobacco smoking increases the risk of high-grade dysplasia and cancer among patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2012;142:233-40.
196. Steevens J, Schouten LJ, Driessen AL, et al. A prospective cohort study on overweight, smoking, alcohol consumption, and risk of Barrett's esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:345-58.
197. Cook MB, Kamangar F, Whitman DC, et al. Cigarette smoking and adenocarcinomas of the esophagus and esophagogastric junction: a pooled analysis from the international BEACON consortium. *J Natl Cancer Inst* 2010;102:1344-53.
198. Kramer JR, Fischbach LA, Richardson P, et al. Waist-to-hip ratio, but not body mass index, is associated with an increased risk of Barrett's esophagus in white men. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:373-381 e1.
199. Kong CY, Nattinger KJ, Hayeck TJ, et al. The impact of obesity on the rise in esophageal adenocarcinoma incidence: estimates from a disease simulation model. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:2450-6.
200. Skacel M, Petras RE, Gramlich TL, et al. The diagnosis of low-grade dysplasia in Barrett's esophagus and its implications for disease progression. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3383-7.
201. Phoa KN, van Vilsteren FG, Weusten BL, et al. Radiofrequency ablation vs endoscopic surveillance for patients with Barrett esophagus and low-grade dysplasia: a randomized clinical trial. *JAMA* 2014;311:1209-17.
202. Small AJ, Araujo JL, Leggett CL, et al. Radiofrequency Ablation is Associated with Decreased Neoplastic Progression in Patients with Barrett's Esophagus and Confirmed Low-Grade Dysplasia. *Gastroenterology* 2015.
203. Kerkhof M, van Dekken H, Steyerberg EW, et al. Grading of dysplasia in Barrett's oesophagus: substantial interobserver variation between general and gastrointestinal pathologists. *Histopathology* 2007;50:920-7.
204. Levine DS, Haggitt RC, Blount PL, et al. An endoscopic biopsy protocol can differentiate high-grade dysplasia from early adenocarcinoma in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 1993;105:40-50.
205. Nigro JJ, Hagen JA, DeMeester TR, et al. Occult esophageal adenocarcinoma: extent of disease and implications for effective therapy. *Ann Surg* 1999;230:433-8; discussion 438-40.
206. Reid BJ, Blount PL, Feng Z, et al. Optimizing endoscopic biopsy detection of early cancers in Barrett's high-grade dysplasia. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3089-96.

207. Downs-Kelly E, Mendelin JE, Bennett AE, et al. Poor interobserver agreement in the distinction of high-grade dysplasia and adenocarcinoma in pretreatment Barrett's esophagus biopsies. *Am J Gastroenterol* 2008;103:2333-40; quiz 2341.
208. Ormsby AH, Petras RE, Henricks WH, et al. Observer variation in the diagnosis of superficial oesophageal adenocarcinoma. *Gut* 2002;51:671-6.
209. Zhu W, Appelman HD, Greenson JK, et al. A histologically defined subset of high-grade dysplasia in Barrett mucosa is predictive of associated carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2009;132:94-100.
210. Nasr JY, Schoen RE. Prevalence of adenocarcinoma at esophagectomy for Barrett's esophagus with high grade dysplasia. *J Gastrointest Oncol* 2011;2:34-8.
211. Kara MA, Peters FP, Rosmolen WD, et al. High-resolution endoscopy plus chromoendoscopy or narrow-band imaging in Barrett's esophagus: a prospective randomized crossover study. *Endoscopy* 2005;37:929-36.
212. Curvers WL, Alvarez Herrero L, Wallace MB, et al. Endoscopic tri-modal imaging is more effective than standard endoscopy in identifying early-stage neoplasia in Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 2010;139:1106-14.
213. Peters FP, Brakenhoff KP, Curvers WL, et al. Histologic evaluation of resection specimens obtained at 293 endoscopic resections in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2008;67:604-9.
214. Wani S, Mathur SC, Curvers WL, et al. Greater interobserver agreement by endoscopic mucosal resection than biopsy samples in Barrett's dysplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010;8:783-8.
215. Mino-Kenudson M, Hull MJ, Brown I, et al. EMR for Barrett's esophagus-related superficial neoplasms offers better diagnostic reproducibility than mucosal biopsy. *Gastrointest Endosc* 2007;66:660-6; quiz 767, 769.
216. Sangle NA, Taylor SL, Emond MJ, et al. Overdiagnosis of high-grade dysplasia in Barrett's esophagus: a multicenter, international study. *Mod Pathol* 2015.
217. Hahn HP, Blount PL, Ayub K, et al. Intestinal differentiation in metaplastic, nongoblet columnar epithelium in the esophagus. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1006-15.
218. Liu W, Hahn H, Odze RD, et al. Metaplastic esophageal columnar epithelium without goblet cells shows DNA content abnormalities similar to goblet cell-containing epithelium. *Am J Gastroenterol* 2009;104:816-24.
219. Chaves P, Cardoso P, de Almeida JC, et al. Non-goblet cell population of Barrett's esophagus: an immunohistochemical demonstration of intestinal differentiation. *Hum Pathol* 1999;30:1291-5.

220. Chaves P, Cruz C, Cardoso P, et al. Enterocytic columnar non-goblet cells of Barrett's esophagus--an immunohistochemical demonstration of association with malignant evolution. *J Exp Clin Cancer Res* 2003;22:273-8.
221. Murray L, Watson P, Johnston B, et al. Risk of adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: population based study. *BMJ* 2003;327:534-5.
222. Khandwalla HE, Graham DY, Kramer JR, et al. Barrett's esophagus suspected at endoscopy but no specialized intestinal metaplasia on biopsy, what's next? *Am J Gastroenterol* 2014;109:178-82.
223. Ramus JR, Gatenby PA, Caygill CP, et al. Surveillance of Barrett's columnar-lined oesophagus in the UK: endoscopic intervals and frequency of detection of dysplasia. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009;21:636-41.
224. Chaves P, Pereira AD, Cruz C, et al. Recurrent columnar-lined esophageal segments--study of the phenotypic characteristics using intestinal markers. *Dis Esophagus* 2002;15:282-6.
225. Mungan Z. Is It Barrett's Esophagus or Gastric Heterotopia? *Case Rep Gastroenterol* 2014;8:282-5.
226. Chong VH. Clinical significance of heterotopic gastric mucosal patch of the proximal esophagus. *World J Gastroenterol* 2013;19:331-8.
227. Chandrasoma P, Wijetunge S, Demeester SR, et al. The histologic squamo-oxyntic gap: an accurate and reproducible diagnostic marker of gastroesophageal reflux disease. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1574-81.
228. Spechler SJ. Intestinal metaplasia at the gastroesophageal junction. *Gastroenterology* 2004;126:567-75.
229. Chang Y, Liu B, Liu GS, et al. Short-segment Barrett's esophagus and cardia intestinal metaplasia: A comparative analysis. *World J Gastroenterol* 2010;16:6151-4.
230. Oberg S, Johansson J, Wenner J, et al. Metaplastic columnar mucosa in the cervical esophagus after esophagectomy. *Ann Surg* 2002;235:338-45.
231. Dunn LJ, Shenfine J, Griffin SM. Columnar metaplasia in the esophageal remnant after esophagectomy: a systematic review. *Dis Esophagus* 2015;28:32-41.
232. McIntire MG, Soucy G, Vaughan TL, et al. MUC2 is a highly specific marker of goblet cell metaplasia in the distal esophagus and gastroesophageal junction. *Am J Surg Pathol* 2011;35:1007-13.
233. Dias Pereira A, Chaves P. Columnar-lined oesophagus without intestinal metaplasia: results from a cohort with a mean follow-up of 7 years. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;36:282-9.

234. Srivastava S, Liew MS, McKeon F, et al. Immunohistochemical analysis of metaplastic non-goblet columnar lined oesophagus shows phenotypic similarities to Barrett's oesophagus: a study in an Asian population. *Dig Liver Dis* 2014;46:170-5.
235. Derakhshan MH, Robertson EV, Lee YY, et al. In healthy volunteers, immunohistochemistry supports squamous to columnar metaplasia as mechanism of expansion of cardia, aggravated by central obesity. *Gut* 2015.

Esta Tese foi redigida de acordo com a antiga ortografia.