



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

Metaplasia Colunar do Esófago Da Epidemiologia à Morfologia

Daniela C. Vinha Pereira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Medicina
(2º ciclo de estudos)

Covilhã, Maio de 2012



INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DE LISBOA

A meus Pais,
pois é chegada a hora de começar a retribuir a dedicação que ao longo destes
24 anos têm tido para comigo.

Agradecimentos

À minha Orientadora, Professora Doutora Paula Chaves, pela forma apaixonada como me conduziu, de modo incansável, apesar da distância, e por me ter aberto todas as portas possíveis, dando-me apoio incondicional.

Ao meu Co-Orientador, Dr. António Dias Pereira, pela disponibilidade para me receber no Serviço de Gastrenterologia do IPO de Lisboa, e pelas sábias e criteriosas correções.

Aos elementos constituintes do Serviço de Anatomia Patológica do IPO de Lisboa, pela forma calorosa como me acolheu, facilitando o meu acesso ao material de que necessitei para levar a cabo o trabalho que integra o VI capítulo da minha tese; destaco, aqui, o Director de Serviço, Doutor José Cabeçadas, e a administrativa Paula Martins, sem a qual não teria conseguido consultar os processos em formato de papel.

Ao Dr. Moura Nunes, pela paciência que dedicou às minhas fotografias de lâminas.

Nota Introdutória:

Este trabalho está escrito segundo as normas do acordo ortográfico anterior ao Vocabulário Ortográfico de Língua Portuguesa recentemente aprovado.

RESUMO

A primeira referência à entidade que hoje conhecemos por Esófago de Barrett remonta a 1906 ¹, quando Tileston descreveu uma “úlceras do esófago distal, sobrejacente ao cárdia, com aspectos macro e microscópicos sobreponíveis aos da úlcera gástrica”. Porém, a metaplasia colunar do esófago, também conhecida como metaplasia ou Esófago de Barrett (EB), ainda hoje é motivo de controvérsia, estando o seu estudo longe de ser um capítulo encerrado.

É conhecida a relação estreita entre o EB e o refluxo gastroesofágico prolongado ^{2,3} e um dos motores impulsionadores da investigação nesta área é o facto de se tratar de uma condição pré-maligna, associada à biopatogenia do adenocarcinoma (ADC) do esófago. ^{3,4} Esta é a neoplasia cuja incidência, apesar de baixa, mais cresceu nas últimas décadas, no mundo ocidental ⁵, tendo um prognóstico sombrio, com uma sobrevivência aos 5 anos inferior a 20%. ⁶ A sequência metaplasia → displasia → carcinoma, descrita por Haggitt em 1978 ⁴, traduz a evolução do EB para ADC do esófago. Porém, nem todos os casos de metaplasia colunar do esófago evoluem para ADC e, neste ponto, tornou-se evidente que o fenótipo intestinal é o indicador major de risco de transformação maligna. ⁷⁻⁹ Para além deste tipo epitelial, caracterizado pela presença de células caliciformes, foram identificados nos segmentos metaplásicos outros 2 epitélios habitualmente presentes no estômago: o juncional ¹⁰ ou cárdico ¹¹ e o fúndico-atrófico ¹⁰ ou oxíntico-cárdico ¹¹. Segundo Chandrasoma ¹¹, a substituição metaplásica do epitélio pavimentoso normal do esófago progride de acordo com a sequência: mucosa de tipo cárdico → oxíntico-cárdico → intestinal. ¹²

Tendo em conta esta evolução temporal, e conhecendo a instabilidade do EB, seria de considerar a hipótese de a metaplasia intestinal (MI) aumentar com o tempo de doença. Neste contexto, no decorrer da elaboração da monografia surgiu a necessidade de explorar um pouco mais o comportamento da relação dos dois tipos epiteliais metaplásicos (intestinal e não intestinal), tendo em conta a duração do refluxo, pelo que desenvolvi um estudo retrospectivo longitudinal observacional com uma amostra de doentes com Esófago de Barrett seguidos no Instituto Português de Oncologia de Lisboa, procurando avaliar a percentagem de metaplasia intestinal em 3 momentos distintos da evolução de cada doente, sua correlação com a duração dos sintomas de refluxo e extensão dos segmentos metaplásicos. Não foi testemunhada a progressão da MI, mas também não se verificou uma diminuição da mesma, o que corrobora a estabilidade deste fenótipo.

Palavras-chave: Metaplasia colunar do esófago; Esófago de Barrett; metaplasia intestinal; epitélio pavimentoso; adenocarcinoma do esófago.

ABSTRAT

The first reference of what we know today as Barrett's Esophagus dates from 1906, when Tileston describes an "ulcer of the distal esophagus, overlying the cardia, with macro and microscopic aspects similar to those of gastric ulcer." However, the esophagus' columnar metaplasia, also known as Barrett's metaplasia or Barrett's esophagus (BE), is still matter of controversy, and its study is far from being a closed chapter.

There is a known close relationship between EB and prolonged gastroesophageal reflux^{2,3}, and one of the central drivers of research in this area is that it is a premalignant condition associated with esophagus' adenocarcinoma (ADC).^{3,4} This is a cancer whose incidence, although low, most increase, in the western world, over the past decades⁵; it has a poor prognosis, with a 5 years' survival less than 20%.⁶ The sequence metaplasia → dysplasia → carcinoma, described by Haggitt in 1978⁴, reflects the evolution of the BE to esophagus' ADC. However, not all cases of esophagus' columnar metaplasia evolve to ADC, and, at this point, it became apparent that the intestinal phenotype is the major risk for malignant transformation.⁷⁻⁹ Apart from this epithelial type, characterized by the presence of goblet cells, there were identified two other metaplastic segments usually present in the stomach: junctional¹⁰ or cardiac¹¹ and gastric atrophic fundic¹⁰ or oxyntocardiac¹¹. According Chandrasoma¹¹, replacing normal squamous epithelial metaplasia of the esophagus progresses through the sequence: cardiac type mucosa → oxyntocardiac type → intestinal metaplasia.

Given this evolution, and knowing the instability of the BE, it would be to consider the hypothesis that intestinal metaplasia (IM) increase with duration of disease. In this context, during the preparation of the monograph, came the need to explore the behavior of the two metaplastic epithelial types (intestinal and non-intestinal), taking into account the duration of reflux, so, I developed a retrospective longitudinal observational study with Barrett's esophagus patients followed in the Portuguese Oncology Institute of Lisbon, attempting to assess the percentage of intestinal metaplasia in three distinct moments of each patient, the correlation with the duration of reflux symptoms and extent of the metaplastic segment. It was neither observed the progression of IM, nor a decrease of it, which confirms the stability of this phenotype.

Keywords: Esophagus' columnar metaplasia; Barrett's esophagus; intestinal metaplasia; squamous epithelium; esophagus' adenocarcinoma.

Índice

RESUMO	V
ABSTRAT	VI
Índice	VII
Índice de Figuras	VIII
Índice de Tabelas	IX
Lista de Acrónimos.....	X
INTRODUÇÃO.....	1
Metaplasia Colunar do Esófago	2
I. ASPECTOS HISTÓRICOS.....	2
II. A EPIDEMIOLOGIA	5
III. A PATOGÉNESE E OS FACTORES DE RISCO	7
IV. O DIAGNÓSTICO	11
V. A RELAÇÃO COM O ADENOCARCINOMA DO ESÓFAGO	15
VI. ANÁLISE DA EVOLUÇÃO TEMPORAL DA RELAÇÃO EPITÉLIO NÃO INTESTINAL/EPITÉLIO INTESTINAL EM DOENTES COM ESÓFAGO DE BARRETT.....	17
1. Introdução	17
2. Objectivo.....	17
3. Material e Métodos	17
4. Resultados	19
5. Discussão	22
CONCLUSÕES.....	25
Referências Bibliográfica	26
ANEXOS	34
Anexo 1 - Declaração de Aceitação de Orientação	35
Anexo 2 - Declaração de Aceitação de Co-orientação.....	36
Anexo 3 - Formulário do Processo individual	37
Anexo 4 - Declaração de Aptidão para Provas Públicas	38

Índice de Figuras

Figura 1 - Progressão da doença, demonstrando as alterações endoscópicas e histológicas.....7

Figura 2 - Variação da MI entre as endoscopias 1 e 2 em função do tempo de toma de IBP ... 21

Figura 3 - Variação da MI entre as endoscopias 2 e 3 em função do tempo de toma de IBP ... 21

Índice de Tabelas

Tabela 1- Extensão endoscópica do EB e frequência de ocorrência	19
Tabela 2- Distribuição da MI nas 3 Endoscopias (EDA)	20
Tabela 3- Análisedo Número de Fragmentos nos 25 doentes com 3 Endoscopias	20

Lista de Acrónimos

ACG	American College of Gastroenterology
ADC	Adenocarcinoma
BE	<i>Barrett's Esophagus</i>
BMP-4	<i>Bone Morphogenetic Protein 4</i>
BSG	British Society of Gastroenterology
CK	Citoqueratina
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPP	Dipeptidilpeptidase
DRGE	Doença de Refluxo Gastro-esofágico
E-DRGE	Doença de Refluxo Gastro-esofágico Erosiva
EDA	Endoscopia Digestiva Alta
HCl	Ácido clorídrico
H. pylori	Helicobacter pylori
IBP	Inibidor da Bomba de Prótons
IFN γ	Interferão Gama
IL	Interleucina
IM	<i>Intestinal Metaplasia</i>
JEG	Junção Esófago-gástrica
MI	Metaplasia Intestinal
NK κ B	Factor Nuclear kappa B
PAS/AB	<i>Periodic Acid Schiff/Alcian Blue</i>
RGE	Refluxo Gastro-esofágico
SI	Sucrase-isomaltase
TLR	<i>Toll Like Receptor</i>
TNF α	Factor de Necrose Tumoral Alpha

INTRODUÇÃO

Abordar uma entidade que, embora descoberta há mais de 100 anos, continua tão incompreendida e incompreensível, residindo dúvidas na própria definição, torna-se um desafio. Desafio esse que decidi abraçar quando me propus fazer esta monografia e para o qual despertei assim que iniciei a pesquisa bibliográfica no motor de busca da PubMed, utilizando como palavras-chave Esophageal Columnar Metaplasia, Barrett's esophagus e Barrett's metaplasia. Rapidamente surgiram diversos artigos, dos quais apenas excluí os poucos que não tinham uma versão escrita em inglês, e, à medida que comecei a ler, deparei com o conflito instalado entre americanos (*American College of Gastroenterology*) e ingleses (*British Society of Gastroenterology*), nenhum deles completamente errado e nenhum completamente certo, algo que viria a descobrir com o aprofundar no tema - também neste contexto nem sempre as únicas cores são o preto e o branco, havendo muitos tons de cinzento que vão clareando à medida que surgem novos dados, pista para futuras descobertas. É neste enigmático mundo de cores que pretendo que imerjam, na tentativa de que descubram um interessante objecto de estudo com implicações clínicas reais importantes, esperançada de que, tal como eu, se apaixonem por este campo da Medicina.

Metaplasia Colunar do Esófago

I. ASPECTOS HISTÓRICOS

As controvérsias relativas ao esófago de Barrett (EB) começam na própria definição. Se é consensual admitir que se trata de uma substituição metaplásica do epitélio pavimentoso normal do esófago por um epitélio colunar ⁶, com qualquer extensão, tudo o mais é questionável, havendo estudos contraditórios a corroborar diferentes opiniões. Mas as incertezas duram há mais de 100 anos, desde que, em 1906, Tileston descreveu pela primeira vez o que hoje dá pelo nome de EB: uma “úlceras do esófago distal, sobrejacente ao cárdia, com aspectos macro e microscópicos sobreponíveis aos da úlcera gástrica”. ¹ Tileston admitia que a lesão estava relacionada com um “cárdia insuficiente que permitia a regurgitação do conteúdo gástrico”, condicionando um processo inflamatório localizado no terço inferior do esófago.

Até ao início da década de 50, a investigação nesta área apenas conseguiu demonstrar que a úlcera péptica do esófago e a esofagite péptica eram duas entidades morfológicamente distintas. ¹³

Em 1950, Norman Barrett afirmava, erroneamente, que a entidade que Tileston descrevera, afinal não ocorria no esófago mas antes no estômago, dado que considerava como esófago apenas “a parte do tubo digestivo, distal ao esfíncter cricofaríngeo, revestida por epitélio pavimentoso estratificado”. ¹⁴ Admitia, assim, embora incorrectamente, que a junção escamo-colunar determina a junção esófago-gástrica, justificando o aparecimento das úlceras acima do diafragma como casos de esófago curto congénito. O erro foi corrigido em 1957 ¹⁵, após Allison e Johnstone terem demonstrado que o que Barrett considerara como estômago não poderia sê-lo, dado que não era revestido por peritoneu ¹⁶; a partir daí, a entidade passou a designar-se por “esófago distal revestido por epitélio colunar” e a ser conhecido pelo epónimo de “úlceras de Barrett”.

Quase simultaneamente, em França, Lortat-Jacob descrevia uma “ascensão endoesofágica de mucosa de tipo gástrico”, em doentes com refluxo gastro-esofágico (RGE); afirmava não haver alteração topográfica da junção esófago-gástrica e denominava a entidade “endobraquiesófago”. ¹⁷ Assim, e segundo Bremner em “Fifty-eight years of Barrett’s oesophagus” ¹⁸, o EB deveria designar-se por “Esófago de Lyall-Lortat-Jacob-Allison-Barrett”, em homenagem àqueles que verdadeiramente contribuíram para o seu entendimento.

Na década de 60 começou a questionar-se a natureza do EB, tido até então como congénito. Porém, só em 1970 Bremner demonstrou que o EB é uma lesão adquirida, e sugeriu uma hipótese para a biopatogenia: o “epitélio pavimentoso destruído pelo refluxo seria substituído pelo deslizamento de células colunares com origem no estômago ou na junção esófago-gástrica”. ¹⁹ Reconhecia-se, assim, a natureza metaplásica da lesão.

Paull ¹⁰, em 1976, tentou sistematizar os epitélios presentes no EB, procurando fazer convergir as inúmeras designações até então utilizadas pelos diferentes autores, de forma a uniformizar a nomenclatura, deste modo, facilitar a comunicação. Nos segmentos metaplásicos que estudou, identificou dois epitélios de tipo gástrico, a que chamou “juncional” e “fúndico-atrófico”, e um de tipo intestinal, caracterizado pela presença de células caliciformes, que designou por “colunar especializado”. Mais tarde, em 2000, Chandrasoma ¹¹ denominou estes epitélios, respectivamente, por “tipo cárdico”, “tipo oxíntico-cárdico” e “tipo intestinal”. Chandrasoma sugeriu, ainda, que a substituição metaplásica do epitélio pavimentoso normal do esófago obedecia a uma progressão cronologicamente modulada. Assim, o primeiro epitélio da sequência metaplásica seria o de tipo cárdico, que evoluiria para oxíntico-cárdico (sem risco de transformação neoplásica), ou para intestinal ¹² (já com risco de transformação maligna). Acrescentou que a presença de epitélios de tipo gástrico era preditiva da existência de RGE e que o refluxo era tanto mais intenso quanto maior fosse a extensão dessas mucosas. Da hipótese de Chandrasoma surgiu uma proposta de sistema de graduação da doença de refluxo (DRGE), baseada no risco de adenocarcinoma: grau 1 e 2 - presença e extensão de epitélio de tipo cárdico e intestinal; grau 3 - presença de displasia de baixo grau; grau 4 - displasia de alto grau, grau 5 - adenocarcinoma (ADC). ²⁰

Na década de 80, num trabalho liderado por Skinner estabelecia-se a presença de 3cm de segmento metaplásico como critério mínimo de inclusão para o diagnóstico de EB ²¹. Skinner baseava-se no postulado de Hayward (1961), segundo o qual “o revestimento normal do esófago não seria exclusivamente epitélio pavimentoso e que os 1-2 cm distais deveriam ser revestidos por epitélio colunar” que, evitando a digestão do epitélio pavimentoso, seria o ponto de partida para a ascensão do epitélio colunar metaplásico, epitélio esse que defendia ser reversível. ²² Relembro que Paull, ao definir o epitélio metaplásico de tipo juncional, o considerou indistinguível do gástrico normal, pelo que o critério de exigir uma extensão mínima de 3 cm de revestimento colunar evitava diagnósticos falsos positivos de EB.

No início dos anos 90, com a descrição de casos de ADC do esófago associados a segmentos metaplásicos inferiores a 3 cm ²³, levantou-se a questão do verdadeiro significado funcional da extensão. Iniciou-se, então, uma nova era da investigação em EB, agora direccionada para o risco associado aos segmentos curtos.

Actualmente persistem duas definições, das escolas americana e inglesa. Ambas fazem depender o diagnóstico do reconhecimento endoscópico de uma alteração ao nível do esófago distal (presença de mucosa vermelho-aveludada, semelhante à gástrica, acima da transição esófago-gástrica), discordando, no entanto, nos critérios histológicos: presença de metaplasia intestinal (células caliciformes) para a americana; presença de epitélio colunar (de tipo intestinal ou não) para a inglesa.

Assim, na última actualização das normas para diagnóstico, vigilância e terapêutica do EB do *American College of Gastroenterology (ACG)*, que data de 2008, ele é definido como

“uma alteração no epitélio distal do esófago, de qualquer extensão, que pode ser identificada endoscopicamente como uma mucosa de tipo colunar, e que, após biópsia, se confirma ter metaplasia intestinal”.⁷

De acordo com as normas da *British Society of Gastroenterology (BSG)* o EB é “uma área acima da junção esófago-gástrica cujo aspecto endoscópico é sugestivo de Barrett (mucosa de cor salmão), tendo estes achados de ser suportados pela identificação histológica de um epitélio colunar”.²⁴ Deste modo, para a escola inglesa a presença de MI não é requisito obrigatório para definição de EB, ainda que reconheçam que frequentemente estão presentes áreas deste tipo. Justificam a sua posição com o facto de a maioria dos trabalhos demonstrar que a ausência do epitélio intestinal pode estar associada a uma colheita insuficiente de fragmentos para biópsia, pressupondo, pois, que, no decorrer do tempo, ela será observada em todos os pacientes.²⁵

II. A EPIDEMIOLOGIA

Segundo as normas americanas para o manejo do EB (ACG) ⁷, o doente *tipo* é do sexo masculino e raça caucasiana, acima da quinta década e com história de DRGE (pirose), de longa duração (em média superior a 13 anos). Mas não se pense que esta é uma caracterização recente, pois constatação idêntica já havia sido feita por Tileston, em 1906. ¹

Com base na análise comparativa de dados da clínica e de autópsias, estima-se que a prevalência do EB na população geral seja de 0,4% ^{26,27}, sendo significativamente maior nos indivíduos com história de DRGE (10% a 20%).⁵ Num estudo sueco ²⁸ e em estudos endoscópicos de indivíduos assintomáticos, nos EUA ^{29,30}, as prevalências apontadas são consideravelmente superiores: 1,6% e 5,6%, respectivamente, tendo-se concluído, ainda, que a prevalência é maior entre a população mais idosa (15-25%) ^{29,30}; esta constatação era expectável, tendo em conta a demonstração de Gopal de que a prevalência de EB aumenta, atingindo um plateau aos 60-70 anos. ³¹ Deste modo, observam-se valores diferentes consoante a metodologia utilizada e a amostra seleccionada (nomeadamente quando há uma maior percentagem de indivíduos do sexo masculino e com idades acima dos 50 anos), sendo o valor real ainda uma incógnita. Sabe-se, porém, que a prevalência conhecida de casos de EB é menor do que a real, dado que mais de 40% dos doentes são assintomáticos ²⁸ e, como tal, não são submetidos a endoscopia digestiva alta (EDA), o primeiro passo para o diagnóstico. Assim, admite-se que alguns, se não a maior parte dos casos de EB, permanecem desconhecidos. ³²

Uma outra dificuldade dos estudos epidemiológicos relaciona-se com as significativas alterações na definição de EB observadas ao longo das últimas 6 décadas, o que torna extremamente difícil documentar quer a incidência e, sobretudo, a prevalência do EB. Pode afirmar-se, todavia, que ambas têm vindo a crescer, ainda que não se tenha conseguido determinar se o crescimento da incidência do EB acompanha paralelamente o conhecido crescimento do ADC do esófago. ³³ Classificando o EB em função da extensão em segmentos curtos (< 3 cm) e segmentos longos (≥ 3 cm), os primeiros parecem corresponder a pelo menos 75% dos casos. ^{28,33-35} Segundo Fass, a extensão, nomeadamente dos segmentos longos, correlaciona-se com a exposição ao conteúdo ácido proveniente do estômago. ³⁶ Todavia, verificou-se que, uma vez desenvolvido o EB, a sua extensão não sofre alterações significativas ao longo do tempo, mesmo num contexto de refluxo continuado ³⁷; isto contrapõe a ideia de que os segmentos curtos e os segmentos longos de EB representam um contínuo de um mesmo processo fisiopatológico. ³⁸ Em suma, embora os dados apontem para uma relação entre a extensão de EB e a gravidade do refluxo, não se sabe porque se desenvolvem extensões diferentes de EB.

Também se encontrou uma correlação directa entre o risco de displasia e a extensão do EB ^{33,34}, traduzida num aumento de 13% do risco de displasia por cada cm a mais na extensão do EB. ³¹ O risco de displasia aumenta, ainda, com a idade - 3,3% por cada ano, a partir dos 40 anos. ³¹

A relação homem/mulher nos doentes com EB é, globalmente, de 2:1.^{5,6,39} Esta diferença tem sido explicada pela desigual exposição a factores de risco, bem como pela variabilidade genética intergénero; há, ainda, evidência de que a taxa de crescimento da prevalência de EB, para uma mesma faixa etária (30-50 anos), é maior no sexo masculino⁴⁰, o que contribui para o aumento das diferenças observadas. Segundo Cook, a maior diferença homem/mulher encontrada ocorreu na Austrália (2,57:1), por oposição à menor (1,56:1), no Reino Unido.³⁹ As variações de acordo com a localização geográfica poderão resultar de diferentes critérios de diagnóstico e referenciação utilizados em cada país.

É interessante observar que na DRGE erosiva (E-DRGE) há, também, uma predominância do sexo masculino (1,57:1), o que se enquadra na perspectiva de que a E-DRGE pode ser um precursor do EB.³⁹

A faixa etária com maior prevalência de EB é a que se situa acima dos 50 anos (média de 55-60 anos)³³; verificou-se também, que a média de idades das mulheres no momento do diagnóstico é superior à dos homens em cerca de 10 anos^{41,42}. Porém, sobre este ponto levanta-se a questão se o maior número de casos diagnosticados a partir dos 50 anos reflecte, na realidade, uma maior prevalência ou se resulta, apenas, do facto de se efectuarem mais endoscopias a partir dessa idade. Depois dos 79 anos observa-se uma diminuição da prevalência de EB, em ambos os sexos.⁴² Importa, também, referir que, embora raros, existem casos descritos de EB em criança, que estão igualmente associados ao RGE.^{43, 44}

No que concerne à história de DRGE e especificamente à sintomatologia dos doentes, a maior parte dos estudos reporta uma prevalência idêntica em ambos os sexos^{33,39}, ainda que, por vezes, haja referência a uma ligeira preponderância feminina.^{45,46} A frequência e a cronicidade dos sintomas são mais valorizadas em detrimento da severidade dos mesmos - segundo Hirota³³, os doentes com segmentos longos de EB apresentam uma história mais prolongada de sintomas de RGE (20 anos, em média), quando comparados com aqueles que têm segmentos curtos (3,5 anos), embora os dados da literatura não suportem o conceito do aumento progressivo da extensão em função do tempo de história de DRGE; no entanto, importa não esquecer que uma parte significativa da população com EB é assintomática, pelo que se consideram os sintomas de DRGE como pouco preditivos da presença de EB.^{47,48}

A relação da hérnia do hiato com a DRGE está estabelecida (a presença de hérnia do hiato pode aumentar o refluxo, bem como diminuir a clearance esofágica do mesmo, nomeadamente pela promoção da diminuição da pressão do esfíncter esofágico inferior e do diafragma crural) sabendo-se que, de um modo geral, a sua prevalência aumenta com a gravidade da DRGE. Existe, também, uma correlação entre a dimensão da hérnia de hiato e a extensão do EB.^{36, 49-51}

III. A PATOGÊNESE E OS FACTORES DE RISCO

Encontra-se amplamente documentada a relação entre a história DRGE e o desenvolvimento de EB, sendo esta (DRGE) globalmente aceite como factor etiológico primário do EB, que, por sua vez, constitui a principal condição predisponente para ADC do esófago. Assim, afigura-se uma sequência evolutiva desencadeada por um processo inflamatório ao nível do esófago (esofagite), em resposta ao qual resulta uma mucosa metaplásica mais resistente (EB), que, posteriormente, por acumulação de mutações (alterações displásicas de baixo e alto grau) pode estar na génese do ADC do esófago ⁵(Figura 1).

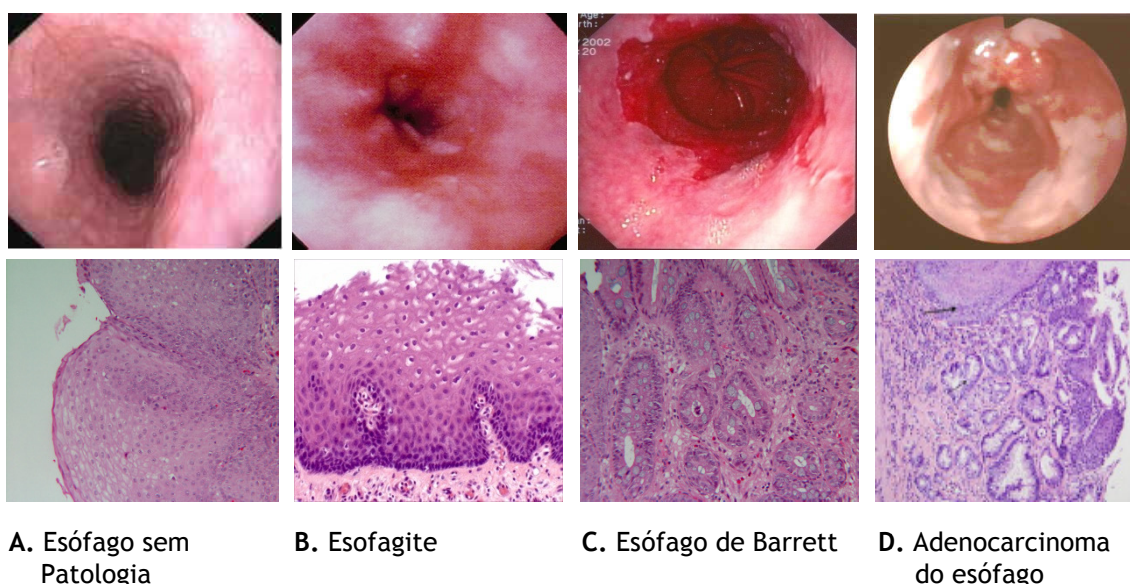


Figura 1 - Progressão da doença, demonstrando as alterações endoscópicas e histológicas.

Teoricamente, a metaplasia (processo pelo qual uma célula adulta é substituída por outro tipo celular) pode resultar da anormal diferenciação de células estaminais ou da transdiferenciação de um tipo de células maduras noutro tipo celular adulto.⁵²No caso particular do EB, porém, ainda não há um consenso quanto à origem celular, sendo descritas três hipóteses: 1. a migração proximal do epitélio colunar gástrico ou juncional, por forma a reparar o epitélio pavimentoso danificado (“metaplasia da zona de transição”), 2. A transdiferenciação das células estaminais, ao nível das camadas basais da mucosa, promovida pelo refluxo, após destruir as camadas mais superficiais do epitélio pavimentoso (“metaplasia de novo”), e 3. um efeito idêntico ao anterior, mas sobre células estaminais localizadas nos ductos das glândulas submucosas, células essas que, entretanto, migram (“metaplasia de

células ductais”) ⁵³; recentemente foi sugerida a possibilidade de células estaminais da medula óssea poderem contribuir para o desenvolvimento de EB, ainda que mais estudos sejam necessários para a confirmação da mesma. ² De acrescentar que, actualmente, a hipótese da migração de células colunares (a primeira a ser proposta) já foi abandonada, uma vez que há casos descritos de EB onde a metaplasia não se encontra contígua ao estômago. ⁵⁴

Importa, também, referir que, de um modo geral, o epitélio metaplásico é idêntico a um tipo de epitélio presente nesse órgão durante a embriogénese. À semelhança do tracto respiratório, o esófago tem origem na endoderme, cujo epitélio parece advir de uma célula progenitora que expressa p63, sendo que, à medida que se dá a maturação, esta célula se diferencia em células colunares ciliadas, onde já não há expressão de p63; no entanto, observando as células menos diferenciadas presentes nas camadas basais do epitélio pavimentoso, que se desenvolve às 17 semanas de gestação, constata-se que estas expressam p63 - isto sugere que a célula estaminal embrionária tem capacidade de dar origem tanto a células colunares como a células pavimentosas. ⁵⁵

Quanto ao mecanismo molecular pelo qual o RGE conduz à carcinogénese no esófago, ainda é pouco conhecido, sugerindo-se três possibilidades: 1. os constituintes do RGE induzem (directa ou indirectamente) alterações genéticas, 2. a menor capacidade antioxidante da mucosa de Barrett contribui para a lesão tecidual e alteração genética, 3. o aumento de radicais livres associado à lesão celular favorece mutações. ⁵⁶ Constatou-se, ainda, uma maior susceptibilidade das células metaplásicas a mutações no DNA, o que, juntamente com a estimulação da proliferação celular promovida pelos componentes do refluxo, cria um ambiente propício a alterações genéticas requeridas para a progressão até ADC. ⁵⁶ De salientar que, quando se fala em refluxo, correctamente dever-se-á ter em conta não só o RGE (ácido) como o duodeno-gastro-esofágico (biliar), uma vez que há casos descritos de desenvolvimento de EB após gastrectomia total, constatando-se, ainda, um aumento do transporte de sais biliares, no contexto de EB, sais esses cuja capacidade nociva (dependente do pH) sobre as células já foi demonstrada. ⁵⁷

Os componentes ácidos do refluxo induzem a expressão dos genes homeobox CDX (1 e 2), via NKκB (factor nuclear kappa B), activado a partir dos “tool like receptores” (TLRs) celulares. O NKκB induz a produção de citocinas pró-inflamatórias como IL-8, IL-1β, TNFα e IFNγ; estas citocinas, por sua vez, conduzem à activação do CDX2 (dependente de NKκB). De acrescentar que as interleucinas 8 e 1β exercem um feedback positivo sobre o NKκB, pelo que níveis crescentes de NKκB estão correlacionados com elevações de IL-8 e IL-1β. ⁵⁸ Também a IL-4 está aumentada no EB, não apresentando idêntico comportamento na esofagite, o que a torna um elemento distintivo. ⁵⁸ Verificou-se, ainda, que na presença de EB a resposta inflamatória passa do tipo Th1 (presente na esofagite), para o predominantemente Th2; uma das citocinas Th2 é a IL-6, uma interleucina com capacidade anti-apoptótica que se encontra, pois, aumentada. ⁵⁸ O NKκB está, também, envolvido na inibição da apoptose, e, consequentemente, na cancerigénese ⁵⁸, a par do papel na inflamação crónica já abordado. Relativamente aos genes CDX (1 e 2), é reconhecida a sua acção na indução da MI - actuam

como factores de transcrição de genes intestinais como o da sucrase-isomaltase (SI), da muc 2, da dipeptidilpeptidase IV (DPP) e da vilina⁵⁸⁻⁶⁰, enzimas essas que têm sido usadas em diversos estudos para demonstrar as características de diferenciação intestinal do epitélio de Barrett, mesmo antes de estas serem perceptíveis morfológicamente⁶¹⁻⁶³; esta constatação corrobora a hipótese cada vez mais aceite de que a MI constitui um processo mais tardio, sucedendo à metaplasia colunar.¹² Sabe-se que a diferenciação intestinal é dependente da expressão de CDX2, que desde a embriogénese determina o fenótipo intestinal⁶⁰; quanto ao CDX1, ainda que expresso na MI, o seu papel é menos claro.⁵⁹ Estes genes homólogos ligam-se à mesma sequência (TTTAT), tendo capacidade de autorregulação, independente do estímulo inicial, o que poderá contribuir para a estabilidade da MI.⁶⁰ O CDX2 tem, ainda, capacidade para iniciar a sua própria expressão, que, em condições normais, está restrita ao intestino.⁶⁰

Uma outra proteína igualmente presente durante o desenvolvimento embrionário mas ausente no esófago adulto (BMP-4) foi detectada em doentes com EB e esofagite por RGE, favorecendo a hipótese da génese do EB residir em células estaminais.⁶⁴ O BMP-4 induz a expressão de citoqueratinas típicas das células colunares, sendo, por isso, implicado no processo de metaplasia de Barrett.²

Como consequência do processo inflamatório, resultam radicais livres de oxigénio. O gene da COX-2 é um dos envolvidos no processo de stress oxidativo⁵³, o que condiciona que níveis de COX-2 se correlacionem com o grau de refluxo⁵⁸; observa-se, ainda, um aumento dos mesmos à medida que se progride na sequência EB → displasia → neoplasia, sugerindo, assim, um papel da COX-2 na evolução para a cancerigénese⁵⁸, o que torna crescente o interesse pelos inibidores da COX-2 como potenciais alvos de prevenção do ADC do esófago.⁵⁸ Curiosamente, no promotor do gene da COX-2 há regiões para ligação do NkκB, observando-se, deste modo, uma conexão entre a cascata inflamatória e a regulação do CDX2.⁵⁸

Sob o ponto de vista molecular, é, ainda, de referir a instabilidade genética característica do EB - a taxa de mutação espontânea é tão lenta que, durante a vida de um ser humano seria impossível adquirir a quantidade de mutações necessárias ao desenvolvimento de neoplasias, pelo que as células pré-neoplásicas têm de ter genomas instáveis.⁶⁵ Esta instabilidade pode manifestar-se como mutações particulares do DNA, ou, mesmo, anomalias cromossómicas, como aneuploidia e tetraploidia, detectáveis por Citometria de Fluxo.⁶⁵ De ressaltar que a tetraploidia pode ser normal, mas quando superior a 6% do total de células está associada a um maior risco de progressão para aneuploidia, que tem sido usada como preditor de progressão neoplásica num contexto de EB.⁶⁵ Verificaram-se alterações quer numéricas quer estruturais ao nível dos cromossomas 1, 4, 7, 8, 9, 15, 17, 18 e Y.^{6,66}

Para além do efeito do refluxo/inflamação sobre a mucosa esofágica, foram sugeridos como factores de risco: o tabagismo (ainda que a associação deste com as neoplasias do esófago e, em particular, o carcinoma de células escamosas, seja mais forte do que com o EB em si) e uma dieta pobre em antioxidantes (frutas e vegetais) e rica em nitritos, pela promoção da mutagénese, interferindo, nomeadamente, com os mecanismos de reparação do

DNA⁵³; a obesidade, por aumento da pressão abdominal e, conseqüentemente, do RGE, para além do risco acrescido de hérnia do hiato, sendo, ainda, sugerido um efeito da leptina na patogénese do EB.⁸ Ao diminuírem a produção de ácido gástrico, pensou-se que os Inibidores da Bomba de Protões (IBPs) pudessem ter um efeito benéfico sobre o epitélio metaplásico, impedindo a progressão do EB; e, se por um lado estão descritos casos de ligeira diminuição da extensão de tecido metaplásico, com doses elevadas de IBP⁶⁷ (ainda que tipicamente não se observem alterações, a este nível⁶⁸), e se descreva, ainda, o aparecimento de “ilhas” com aparência macroscópica de epitélio pavimentoso⁶⁹, por outro lado sabe-se que uma adequada manutenção de valores de pH é particularmente difícil, sobretudo à noite⁵, tendo-se verificado que a exposição pulsátil a pH baixo estimula a hiperproliferação metaplásica⁷⁰, o que torna os IBPs eventuais factores de risco. Quanto à relação com a infecção por *Helicobacter pylori*, tem-se postulado um efeito protector da mesma contra o desenvolvimento de DRGE e EB, quer por diminuição da produção gástrica de ácido (HCl), quer pela síntese de urease, uma enzima que decompõe a amónia em dióxido de carbono, que, ao reagir com os iões hidroxil, forma bicarbonato, um neutralizador do HCl.⁸ A detecção de clusters familiares de EB fez suspeitar de um factor hereditário como contribuinte para a patogénese, que, pelo seu padrão, parece ser autossómico dominante⁵³; no entanto, este padrão não se manteve quanto ao desenvolvimento de ADC do esófago⁷¹, pelo que a influência de factores genéticos parece ser limitada, sendo necessários mais estudos para a comprovar.^{8,71}

IV. O DIAGNÓSTICO

Actualmente é consensual considerar-se o EB como uma patologia cujo diagnóstico assenta no reconhecimento endoscópico de uma alteração do revestimento do esófago distal e na confirmação da mesma pelo patologista. Ao endoscopista compete reconhecer a substituição do epitélio pavimentoso, que normalmente recobre o esófago, por um epitélio colunar, traduzido pela presença de mucosa vermelho-aveludada, semelhante à mucosa gástrica. Ao patologista compete confirmar que a alteração reconhecida na endoscopia corresponde a epitélio colunar.

Para o diagnóstico endoscópico do EB é necessário a correcta identificação de 2 referências:

- A junção pavimento-colunar ou linha Z, reconhecível pela tonalidade diferente dos dois epitélios - o epitélio pavimentoso é rosa-pálido, enquanto o epitélio colunar é vermelho-salmão.
- A junção esófago-gástrica (JEG), que corresponde à transição do esófago para o estômago. Existem diversos conceitos para definir esta junção; porém, o mais consensual no mundo ocidental, considera-a como a extremidade proximal das pregas gástricas.

A linha Z e a JEG são normalmente coincidentes. Quando há um deslocamento proximal da linha Z em relação à JEG, ou seja, quando se observa epitélio colunar acima da transição esófago-gástrica, estamos face a um esófago revestido por epitélio colunar ou EB.³² Importa, pois, ter bem presente as duas referências, por forma a não confundir esta entidade com a metaplasia da junção gastro-esofágica, cujas características morfológicas podem ser sobreponíveis.

Mas nem sempre se considerou como EB todo e qualquer segmento de epitélio colunar localizado acima da JEG.³² Durante muitos anos foi exigida a presença de segmentos de pelo menos 3 centímetros para se estabelecer o diagnóstico.^{21,72} Contudo, o reconhecimento de que a progressão para ADC também ocorria em segmentos de extensão inferior a 3 cm, veio questionar este conceito, entretanto abandonado. Posteriormente, sistematizou-se a classificação do EB em segmentos curtos (< 3 cm) e segmentos longos (≥ 3 cm) na convicção, nem sempre demonstrada, que correspondiam a riscos diferentes de progressão neoplásica³³⁻³⁵. A classificação de Praga (C & M), desenvolvida e validada em 2006 pela equipa liderada por Sharma⁷³, e hoje utilizada na rotina médica, surgiu como uma tentativa de sistematizar a classificação do EB quanto à sua extensão circular (C) e total (M); as suas vantagens são dar uma ideia mais correcta da área do segmento metaplásico - se considerarmos um EB correspondendo a uma digitação com 2,5 cm e outro a um segmento circular com a mesma extensão, apesar de ambos serem segmentos curtos, a área de epitélio metaplásico é significativamente diferente, como evidencia a classificação de Praga C0M2,5 versus C2,5M2,5.

A definição americana de EB baseia o diagnóstico na presença de metaplasia intestinal (MI); contudo, sabe-se que a MI não se encontra uniformemente distribuída pela mucosa metaplásica¹², sendo a probabilidade da sua detecção proporcional à extensão da metaplasia colunar⁷³ e ao número de biópsias efectuadas. As normas recomendam a realização de biópsias dos 4 quadrantes a intervalos de 2 cm de mucosa sugestiva de EB^{7,24,74}, havendo um estudo recente que demonstra que a realização de pelo menos 8 biópsias se associa à maior probabilidade de se encontrar MI.⁷⁵ Aliás, uma das justificações da *British Society of Gastroenterology* (BSG) para não considerar a presença de MI como requisito necessário ao diagnóstico de EB é o facto de poder haver um erro de amostragem na colheita das biópsias, isto é, a MI até pode estar presente mas as biópsias não terem recolhido mucosa dessas áreas, e, assim, serem excluídos da vigilância indivíduos em risco de progressão neoplásica. Sabe-se, também, que na população pediátrica a presença de células caliciformes é pouco frequente.⁴⁴ Outro factor a ter em conta é a evidência de que, ao longo da história natural do EB, há flutuações na quantidade de células caliciformes presentes.⁷³

A necessidade da demonstração de MI para o diagnóstico de EB e para definir a indicação para vigilância relaciona-se com a questão do risco de progressão neoplásica. Será a MI (entenda-se presença de células caliciformes) necessária para estabelecer a existência desse risco?

Estudos retrospectivos recentes mostraram que o epitélio colunar metaplásico sem células caliciformes de doentes diagnosticados com EB tem um fenótipo críptico intestinal, ao revelar a presença de alterações moleculares específicas da normal diferenciação intestinal do tubo digestivo (expressão de CDX-2, Hep Par 1, Vilina, DAS-1 e MUC-2); revelaram, ainda, que essa expressão é semelhante à observada no epitélio com MI.^{76,77} Neste sentido, o risco de progressão neoplásica poderá ser semelhante quer a presença de MI tenha sido documentada ou não.^{25, 78-80} Porém, a transformação neoplásica neste contexto continua a ser pouco compreendida, e a descrição da ocorrência de ADC na ausência de MI é rara. Este é um dos motivos que leva a ACG a continuar fiel à sua exigência. Um outro é de índole económica, já que o diagnóstico de EB se associa a penalizações dos seguros de saúde; sabendo-se que nos segmentos metaplásicos curtos (sobretudo os < 1 cm) a presença de MI não é frequente, excluí-la dos critérios de diagnóstico corresponderia a maiores gastos com a saúde para um número significativo de americanos.⁷³

Chegadas ao Serviço de Anatomia Patológica, edepois de fixadas, as biópsias são coradas com Hematoxilina-Eosina (a rotina). Embora as células caliciformes sejam facilmente reconhecíveis com esta coloração, o patologista pode recorrer à coloração de PAS/AB a pH 2.5, cuja fracção de Alcian Blue (AB) tem especial afinidade para as mucinas ácidas, tipicamente presentes nas células caliciformes^{38,72}; contudo, na prática clínica, o recurso à coloração PAS/AB não é sistematicamente necessário.

Segundo Chandrasoma, a biopatogénese do EB caracteriza-se pelo desenvolvimento inicial de um epitélio colunar com características gástricas (de tipo cárdico e, posteriormente, oxíntico-cárdico), constituindo a intestinalização um processo evolutivo mais

tardio. ¹² Assim, num fragmento de biópsia de EB, para além do desarranjo arquitectural típico de um epitélio em rearranjo constante, consequência da instabilidade dinâmica que o caracteriza, e de alterações inflamatórias/degenerativas decorrentes RGE e da esofagite erosiva, que frequentemente está associada, podemos encontrar simultaneamente: 1. epitélio colunar com grandes vilosidades (metade da espessura mucosa) e predomínio de células mucosas (mucosa de tipo cárdico); 2. epitélio colunar com vilosidades menos profundas (um terço da espessura da mucosa), com células parietais, principais e algumas neuroendócrinas (mucosa de tipo oxíntico-cárdico) ¹⁰; 3. epitélio com células colunares não caliciforme e células caliciformes (MI); 4. epitélio pavimentoso típico do esófago normal. De acordo com a descrição dos epitélios colunares metaplásicos, pode encontrar-se, pois, um paralelismo morfológico entre os epitélios tipo cárdico e oxíntico-cárdico e a mucosa habitual do antro gástrico e do corpo, respectivamente. Importa também lembrar que, segundo Paull¹⁰ e Chandrasoma¹¹, os dois epitélios de tipo gástrico se localizam preferencialmente na porção distal do segmento metaplásico, enquanto o epitélio de tipo intestinal se encontra preferencialmente na porção proximal; este facto pode orientar a estratégia de colheita de biópsias no sentido de aumentar a probabilidade de evidenciar MI. Quando se fala em alterações inflamatórias/degenerativas consideram-se erosões, ulcerações, eosinofilia, hiperplasia da camada basal e alongamento das papilas da lâmina própria. ⁸¹

No relatório histológico, para além de fazer referência à presença de epitélio colunar e de o classificar, com menção específica à presença ou ausência de MI, o patologista tem, ainda, que classificar a displasia (traduzida por pleomorfismo celular, aumento da relação núcleo - citoplasma, núcleos hipercromáticos e anarquia arquitectónica, com mitoses não restritas às camadas basais ⁸¹), graduando-a em Negativa, Indefinido, Baixo Grau ou Alto Grau.

Como métodos de diagnóstico foram sugeridas inúmeras alternativas à EDA convencional, que vão desde a EDA virtual até à Tomografia de Coerência Óptica ³²; a Citometria de Fluxo, para estratificação de risco de transformação maligna, foi sugerida por alguns autores. ^{18,74} Porém, nenhuma das alternativas apontadas provou, até agora, ter igual ou superior valor diagnóstico, sendo necessários mais estudos para corroborar a sua utilidade.

Foram desenvolvidas técnicas como a *Narrow Band Imaging*, a Cromoendoscopia (com azul de metileno, lugol ⁵⁷ ou carmim de índigo ⁶), a Autofluorescência e a *Confocal Laser Microscopy* ⁸ com o objectivo de melhorar a acuidade diagnóstica, quer ao nível da identificação de áreas com maior probabilidade de presença de MI, quer na identificação de áreas displásicas. Um exemplo da sua utilização foi dado pela equipa de Sharma ⁷², que, usando EDA de alta resolução e carmim de índigo, identificou 3 padrões de mucosa nos segmentos de EB: “com cristas/viloso” (*ridge/villous*), “circular” e “irregular/distorcido”; o primeiro padrão correlacionou-se, com grande sensibilidade e especificidade, com a detecção de MI e o padrão “irregular/distorcido” albergava, frequentemente, displasia de alto grau. Assim, os padrões de mucosa identificados na EDA podem correlacionar-se com alterações

histológicas específicas.⁸³ Deste modo, a contribuição destas novas técnicas reside, no fundo, em permitir um diagnóstico “pré-histológico” de MI.

A imunoexpressão das Citoqueratinas 7 (CK7) e 20 (CK20) foi sugerida como potencialmente útil no diagnóstico diferencial entre MI do esófago e MI do estômago. Identifica-se, efectivamente, um “padrão de tipo Barrett CK7/20”, caracterizado pela imunoreactividade superficial e profunda da citoqueratina 7, e pela presença superficial, em banda, da citoqueratina 20⁸⁴, observada na maioria dos segmentos longos e curtos de EB; este padrão é distinto do presente na maioria das MI gástricas, caracterizado pela imunoexpressão superficial e profunda de CK20 e ausência de expressão de CK7. No entanto, a sensibilidade e especificidade dos padrões não permite a sua utilização para distinguir a origem esofágica ou gástrica da MI em casos individuais.⁸⁴⁻⁸⁶

Mais recentemente foi descrito um anticorpo monoclonal (MAbDAS-1) como identificador fidedigno de EB com MI (especificamente a forma incompleta de MI tipo 3).⁸²

V. A RELAÇÃO COM O ADENOCARCINOMA DO ESÓFAGO

O estatuto de condição pré-neoplásica atribuído ao EB, e actualmente reconhecido, foi pela primeira vez proposto em 1978, por Haggitt, que descreveu a sequência metaplasia → displasia → carcinoma.⁴

Apesar de baixa (0,26%, 0,4% em EB⁹⁰), nas últimas três décadas, a incidência do adenocarcinoma (ADC) do esófago, nos caucasianos, aumentou 436% entre o género masculino e 335% no feminino, um crescimento superior ao de qualquer outra neoplasia epitelial.⁸⁸ A agravar este quadro encontra-se o mau prognóstico do ADC do esófago, com uma sobrevivência aos 5 anos inferior a 20%⁶ e uma mortalidade que representa cerca de metade das mortes por carcinoma da mama (aproximadamente 40000 por ano) e um terço das mortes por carcinoma colo-rectal (aproximadamente 55000 por ano).¹⁸ Este aumento da incidência não é acompanhado, contudo, por um aumento idêntico da incidência de EB, nem mesmo de DRGE, pelo que e o RGE não poderá ser o único factor etiológico a explicar o crescimento do ADC do esófago observado, propondo-se, assim, factores ambientais (o tabagismo, o elevado índice de massa corporal, fármacos que promovam o relaxamento do esfíncter esofágico inferior e a diminuição de infecções por *H. pylori*) como co-adjuvantes.⁷¹ Sabe-se, no entanto, que doentes com EB têm um risco acrescido de vir a desenvolver ADC do esófago de 30 a 60 vezes, comparativamente com a população em geral⁹⁰, e que o risco de progressão de EB para ADC do esófago é de 0,4 a 1% por ano.⁹¹

Por outro lado, verificou-se que o risco de desenvolver ADC de Barrett não é igual em todos os doentes e que nem todos os casos de EB evoluem para ADC do esófago, sendo postulado que o fenótipo intestinal é o indicador major do risco de transformação maligna, o que foi sugerido desde os primeiros estudos, onde todos os casos de ADC de Barrett surgiam num contexto de MI.⁹²

Mais recentemente, observaram-se características moleculares de diferenciação intestinal (presença de péptidos específicos) em epitélios metaplásicos onde morfológicamente não foi possível identificar células caliciformes, o que levou à sugestão de que a MI⁶¹⁻⁶³, num contexto de EB, é um fenómeno tardio, sucedendo a metaplasia colunar¹²; esta ideia está na base da actual definição de EB da *British Society of Gastroenterology*. Apesar de 63 a 83% dos casos de ADC de Barrett surgirem na presença de MI⁹², esta hipótese cada vez mais defendida relança a debate os critérios para vigilância da metaplasia do esófago, havendo um estudo que demonstra não existirem diferenças quanto ao risco de desenvolvimento de displasia na presença ou ausência de MI⁹³, e outro onde, em segmentos curtos de EB, a associação com o ADC do esófago foi mais frequente na presença de epitélio cárdico e oxíntico-cárdico do que de MI.⁹⁴

Quanto ao efeito da extensão do EB no risco de progressão neoplásica, observou-se que, em doentes com displasia de alto grau, o risco está aumentado, independentemente da extensão do EB. ⁹⁵

Assim, actualmente, um dos principais desafios da investigação nesta área reside no desenvolvimento de biomarcadores capazes de identificar os doentes com EB que têm maior risco de progressão para ADC do esófago.

VI. ANÁLISE DA EVOLUÇÃO TEMPORAL DA RELAÇÃO EPITÉLIO NÃO INTESTINAL/EPITÉLIO INTESTINAL EM DOENTES COM ESÓFAGO DE BARRETT

1. Introdução

Admitindo-se que a metaplasia intestinal (MI) é um pré-requisito para a progressão neoplásica no EB, e sabendo-se que o risco de ADC aumenta com o tempo, coloca-se a questão se existe uma variação quantitativa da MI, nomeadamente no que respeita à relação com a duração do RGE. Procurou-se, assim, perceber se ao longo do tempo é observável uma variação quantitativa significativa da MI, através de uma análise retrospectiva de uma amostra de doentes com Esófago de Barrett (EB).

2. Objectivo

O objectivo da análise realizada foi avaliar a variação temporal da relação epitélio não intestinal/epitélio intestinal e sua correlação com a duração do RGE, bem como com a extensão dos segmentos metaplásicos.

3. Material e Métodos

Para cumprir os objectivos do estudo, procedi à análise retrospectiva de 47 casos de doentes com diagnóstico de EB seguidos na consulta de Gastreenterologia do Instituto Português de Oncologia de Lisboa, no âmbito do Programa de Vigilância do Esófago de Barrett.

Obtive esta amostra após ter analisado, numa primeira fase, e a partir da base de dados do Programa de Vigilância, os processos dos doentes cuja data de diagnóstico de EB se situava entre 1990 e 1998 - estas datas que foram estipuladas de modo a existirem exames de vigilância realizados posteriormente. Consideraram-se como critérios de diagnóstico de EB a presença de epitélio vermelho-aveludado, semelhante ao do estômago (colunar), ao nível do esófago tubular, acima da transição esófago-gástrica (definida pelo limite proximal das pregas gástricas), e a identificação de metaplasia intestinal nas biópsias (definida como um epitélio colunar com células caliciformes). Foi estabelecido o diagnóstico na presença de qualquer

extensão de epitélio colunar acima da transição esófago-gástrica e da comprovação da existência de pelo menos uma célula caliciforme nas biópsias efectuadas.

Assim, para além da consulta dos processos clínicos em formato de papel, cruzaram-se os dados com o programa informático Anatomia 7.1, utilizado pelo serviço de Anatomia Patológica, de forma a obter os resultados da análise histológica das biópsias.

Nos doentes da amostra que tinham realizado um 3º exame de vigilância (EDA + observação anátomo-clínica), pelo menos 2 anos após o segundo exame, foram utilizados os 3 exames para a análise da variação temporal da MI no EB. De salientar, também, que nem sempre o primeiro exame seleccionado corresponde ao do diagnóstico (endoscopia índice), uma vez que, depois de obtida a amostra, se procurou uniformizar as datas das colheitas, escolhidas com o objectivo de minimizar o viés atribuível à utilização de protocolos diferentes, usados em momentos temporalmente distantes.

Para quantificar a MI presente em cada biópsia, estipularam-se 3 categorias distintas, considerando a relação entre o número de células caliciformes e o número total de células colunares presentes: 1 - inferior a 25%, 2 - entre 25% e 50% e 3 - superior a 50%, analisando-se, para cada caso, todas as lâminas existentes e considerando-se todos os fragmentos presentes (tendo ou não MI).

A estratificação da extensão do EB fez-se de acordo com a classificação em segmentos curtos (< 3cm) e segmentos longos (≥ 3cm).

As restantes variáveis consideradas foram o género (masculino e feminino), a idade (em anos), a terapêutica com IBP (Sim; Não; Desconhecido) e tempo de duração da mesma (em anos), bem como a história de cirurgia anti-refluxo. Para esta última, criaram-se 4 categorias: Sim, antes da EDA1, Sim, antes da EDA2, Sim, antes da EDA3 e 4 - Não.

Os dados foram organizados em processos individuais (formulário em anexo 3), e, posteriormente, compilados numa base de dados em formato de *Microsoft Excel*, ponto de partida para a utilização do programa *SPSS Statistics 19.0*, por meio do qual se procedeu à análise estatística das diversas variáveis a avaliar na amostra. Os testes utilizados foram o *Teste exacto de Fisher*, o *Teste T-student*, o *Teste de Wilcoxon*, o *Teste de Friedman*, o *Teste de Kruskal-Wallis* para além de uma análise de *Regressão Logística*. Tive necessidade de recorrer a testes não paramétricos pela reduzida dimensão da amostra, tendo utilizado o *Teste exacto de Fisher* quando se observaram frequências esperadas inferiores a 5 (analisando a relação entre género e extensão), o *Teste de Wilcoxon*, pela distribuição do número de fragmentos colhidos poder ser considerada simétrica, apesar de não seguir uma distribuição normal, ao contrário do que aconteceu com outras variáveis, onde foi possível aplicar o *Teste T-student* (como no tempo decorrido entre endoscopias); o *Teste de Friedman* permitiu comparar os resultados de 3 amostras diferentes relacionadas (para o número de fragmentos em cada uma das 3 EDAs e distribuição da variável MI) e com o teste não paramétrico de *Kruskal-Wallis* procedi a uma análise das variâncias de variáveis com distribuição não normal (tempo de toma de IBP comparativamente com a MI).

4. Resultados

A amostra em estudo é composta por 47 doentes com diagnóstico de EB, distribuídos, quanto ao género, em 78% Homens e 22% Mulheres, e com uma idade média ao diagnóstico de 58,8 anos, sendo o desvio padrão de 11,3 anos (idade máxima: 75 anos e idade mínima: 31 anos).

Em média, os EB têm uma extensão de 3,3 cm, com um desvio padrão de 1,9 cm, tendo o segmento maior 9 cm e o menor 1 cm. Considerando a frequência de ocorrência por extensão, constata-se que há um predomínio de casos com 2 cm (valor aproximado), que surgem em 37,8% da amostra, havendo apenas 1 caso com aproximadamente 7 cm e outro com 9 cm (2,2% cada) (Tabela 1). Quanto à distribuição segundo a classificação de EB em segmentos curtos (<3cm) e segmentos longos (≥ 3 cm), verifica-se que 48,9% são segmentos curtos e 51,1% são segmentos longos.

Tabela 1- Extensão endoscópica do EB e frequência de ocorrência

	Extensão (cm)	Frequência	%
Válidos	1	5	11,1
	2	17	37,8
	3	6	13,3
	4	6	13,3
	5	3	6,7
	6	6	13,3
	7	1	2,2
	9	1	2,2
		Total	45
Não válidos		2	
TOTAL		47	

Analisando comparativamente o comportamento das variáveis “Género” e “Extensão”, pelo *Teste exacto de Fisher*, não se observam diferenças estatisticamente significativas ($p=0,391$).

Dos 47 casos só 25 têm 3 exames (EDA + observação anátomo-patológica) espaçados de acordo com o esquema de vigilância em vigor; os restantes 22 casos têm apenas 2 exames. O tempo decorrido entre a EDA1 e a EDA2 é de 58,7 meses \pm 9,2 meses (máximo: 86, mínimo: 41) e entre a EDA 2 e a EDA3 diminui para 56 meses \pm 17,2 meses (máximo: 88 meses, mínimo 24 meses). O *Teste T-student* revela $p=0,483$.

Nos 47 doentes incluídos inicialmente (EDA1), a MI foi classificada como 1 (< 25%) em 20 (42,6%), como 2 ($\geq 25\%$ e <50%) em 11 (23,4%) e como 3 (>50%) em 16 (34,0%). Na segunda endoscopia (EDA2), para o mesmo número de doentes, em 4 (8,5%) não foi objectivada a presença de MI, tendo esta sido classificada como 1 em 12 (25,4%), como 2 em 14 (29,8%) e

como 3 em 17 (36,2%); nos 4 doentes em que não foi objectivada MI na EDA2, a classificação da EDA1 tinha sido 1. Nos 25 doentes que fizeram a EDA3, a MI estava ausente em 1 (2,1%) (já ausente na EDA2), foi classificada como 1 em 10 (21,3%), como 2 em 6 (12,8%) e como 3 em 8 (17%) (Tabela 2). A distribuição da variável MI nos 3 exames destes 25 doentes, segundo o *Teste de Friedman*, não revelou diferenças com significado estatístico ($p=0,635$).

Tabela 2- Distribuição da MI nas 3 Endoscopias (EDA)

MI	EDA 1		EDA 2		EDA 2		
	Frequência	%	Frequência	%	Frequência	%	
Válidos	0	0	4	8,5	1	2,1	
	1	20	12	25,5	10	21,3	
	2	11	14	29,8	6	12,8	
	3	16	17	36,2	8	17,0	
Total					25	53,2	
Não válidos					22	46,8	
TOTAL		47	100	47	100	47	100

Legenda- MI: 1- < 25%; 2- $\geq 25\%$ e < 50%; 3- $\geq 50\%$

Relativamente ao número de fragmentos colhidos em cada EDA, na EDA1 a média é de $5,5 \pm 2,6$ fragmentos (1-11) e na EDA2, de $6,8 \pm 3,3$ cm (1-16), verificando-se, pelo *Teste de Wilcoxon*, que o número de fragmentos analisados na EDA2 é significativamente superior ao da EDA1 ($p=0,007$). Comparando o número de fragmentos nos 25 doentes que foram submetidos a 3 endoscopias, a média na EDA1 é de $5,6 \pm 2,6$ fragmentos (máximo: 11, mínimo: 1), da EDA2 é de $6,6 \pm 2,9$ fragmentos (máximo: 14, mínimo: 2) e da EDA3 é de $7,8 \pm 5,0$ fragmentos (máximo: 20, mínimo: 3)(Tabela 3); ainda que se observem diferenças no número de fragmentos colhidos das 3 EDAs, aplicando o *Teste de Friedman*, constata-se que estas não são estatisticamente significativas ($p=0,195$).

Tabela 3- Análise do Número de Fragmentos nos 25 doentes com 3 Endoscopias

N		Frag EDA1	Frag EDA2	Frag EDA3
		Válidos	25	25
	Não válidos	0	0	0
	Média	5,56	6,64	7,80
	Mediana	4,00	6,00	7,00
	Desvio Padrão	2,615	2,856	4,958
	Mínimo	1	2	3
	Máximo	11	14	20

19 doentes (40,4%) estavam sob terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões (IBP) antes da endoscopia índice (EDA1), e sobre 6 doentes (12,8%) não foi possível obter dados a este respeito; aquando da EDA3 já só 2 doentes (4,3%) não faziam IBP, sendo que nunca o tinham feito previamente. Em média, os doentes tinham iniciado a toma de IBP $0,91 \pm 1,2$ anos antes da EDA1 (máximo: 5, mínimo: 0), $4,95 \pm 2,4$ anos antes da EDA2 (máximo: 9, mínimo: 0) e $8,25 \pm 4,1$ anos antes da EDA3 (máximo: 14, mínimo: 0). Comparando a MI em cada endoscopia com a toma de IBP no tempo que precedeu cada um dos exames, pelo *Teste exacto de Fisher* obtêm-se valores de significância superiores a 0,05 (EDA1 $p=0,783$; EDA2 $p=1,000$; EDA3 $p=0,533$).

Relativamente à relação entre a evolução da MI nas EDA e o tempo médio de toma de IBP, apesar de, da EDA1 para a EDA2, se verificar que os doentes onde se observou aumento da percentagem de MI tinham feito, em média, menos tempo de IBP e que aqueles que mantiveram a MI eram os que mais anos estiveram sob terapêutica com IPB (**Figura 2**), as diferenças não foram estatisticamente significativas ($p=0,601$, pelo *Teste de Kruskal-Wallis*).

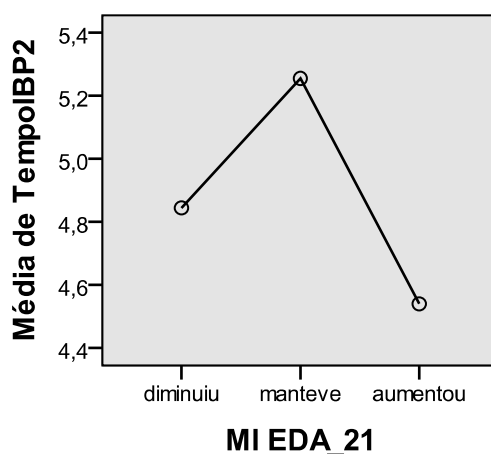


Figura 2 - Variação da MI entre as endoscopias 1 e 2 em função do tempo de toma de IBP

Analisando a mesma variação da EDA2 para a EDA3, estranhamente os doentes que mantiveram a mesma quantidade de MI foram aqueles que fizeram, em média, menos tempo de IBP (**Figura 3**). Mais uma vez, pelo *Teste de Kruskal-Wallis*, estas diferenças não têm significado estatístico.

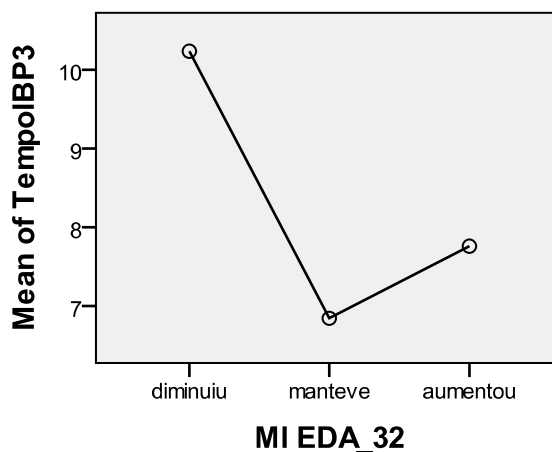


Figura 3 - Variação da MI entre as endoscopias 2 e 3 em função do tempo de toma de IBP

A amostra inclui 5 pessoas que foram submetidas a cirurgia anti-refluxo, sendo que em apenas 1 caso esta ocorreu antes da primeira endoscopia; nos restantes 4 casos a cirurgia teve lugar depois da segunda endoscopia. Dos doentes submetidos a esta cirurgia depois da EDA2, 2 faziam terapêutica com IBP mesmo antes da endoscopia índice (EDA1), terapêutica essa que mantiveram; os outros 2 iniciaram a toma de IBP após a EDA2 (aquando da cirurgia). O único doente com história de cirurgia anti-refluxo prévia à EDA1 já fazia IBP antes da EDA1.

Pela *Análise de Regressão Logística* apenas a MI na EDA1 é preditiva da MI na EDA2 ($p < 0,05$).

5. Discussão

À semelhança dos dados epidemiológicos encontrados na revisão bibliográfica, também a amostra seleccionada é composta maioritariamente por elementos do sexo masculino (78%) e por indivíduos com idade superior a 50 anos (média de 58,8 anos), constatando-se, ainda, que a idade média se aproxima do pico máximo de prevalência descrita, que são os 60-70 anos.³¹ Quanto à raça, todos os doentes são caucasianos, pelo que nada se pode inferir a este respeito.

No que concerne à extensão dos segmentos de EB, verifica-se um ligeiro predomínio de segmentos longos, face aos curtos (51,1% vs 48,9%), o que, aparentemente, se opõe ao esperado, uma vez que, na maioria dos estudos populacionais, se observa um claro predomínio de segmentos curtos, correspondentes, em alguns estudos, a pelo menos 75% dos casos^{28,33-35}; de salientar, porém, que a média da extensão se aproxima dos 3 cm (3,3cm), logo, próximo do limite da definição de segmento longo, e que a extensão com maior frequência na amostra (37,8%) é 2 cm (valor aproximado), o que se insere na categoria de segmento curto. Ainda que a reduzida dimensão da amostra não permita retirar mais conclusões, poder-se-á encontrar uma explicação para estes resultados (predomínio de segmentos longos) à luz da hipótese defendida por Fass, segundo a qual a extensão do EB se correlaciona com a exposição ao conteúdo ácido do estômago³⁶, dado que 19 doentes (40,4%) faziam terapêutica com Inibidores da Bomba de Protões (IBPs) antes da endoscopia índice (EDA1) e que, dos que não faziam, 1 tinha sido submetido a cirurgia anti-refluxo antes da EDA1 e outros 2 acabaram por sê-lo antes da EDA2, o que denota que existia um diagnóstico clínico prévio de DRGE numa significativa parte dos doentes em estudo (46,8%), mas, também, que estes doentes foram medicados apenas com base na clínica, ou seja, não foi efectuada uma endoscopia importante. Não esquecer que o RGE também pode ser assintomático (pelo que eventualmente mais doentes tinham RGE, apesar de não apresentarem sintomas) e que, embora se aponte uma relação entre a extensão do EB e a gravidade do RGE, não se sabe porque se desenvolvem extensões diferentes de EB.

Todos os doentes incluídos tinham MI na EDA1 e sabe-se que, uma vez adquirida a mutação no gene CDX2, responsável pela expressão de um fenótipo intestinal, esta se auto-

perpetua, contribuindo, assim, para a manutenção do epitélio metaplásico e condicionando a irreversibilidade do processo metaplásico.^{59,60} Isto pode também justificar, em parte, os resultados obtidos no que diz respeito à evolução da MI, onde não se registou regressão da MI; a excepção observou-se em 4 casos (8,5%) nos quais não se detectou MI na EDA2, sendo que todos eles possuíam menos de 25% de MI na EDA1. Estes 4 casos podem não corresponder a verdadeiras excepções, podendo tratar-se de uma questão de amostragem, aquando da colheita do material para biópsia ou da “selecção” do corte observado. A consolidar esta ideia está o facto de, num dos 4 casos acima descritos, se ter observado novamente MI na EDA3 (inferior a 25%).

Por outro lado, relativamente ao comportamento da MI ao longo dos diferentes exames efectuados por cada doente, se na EDA1 havia mais casos de MI classificada como 1 - <25% (42,6%) e na EDA2 esta classificação abrangia apenas 25,2% da amostra, prevalecendo a categoria 3 - > 50% (36,2%), isto poderia fazer suspeitar que estávamos perante um aumento da MI com o tempo de doença; no entanto, comparando os resultados obtidos nos 25 doentes que fizeram os 3 exames (EDA + observação anátomo-patológica), a evolução da MI apresenta padrões diversificados: manutenção dentro da mesma categoria (28%), aumento ao longo das endoscopias ou apenas na EDA2 ou EDA3 (28%), diminuição da quantidade de MI em algum momento (36%), aumento e diminuição (8%). Quando se avalia a distribuição da MI pelo *Teste de Friedman*, verifica-se que não é estatisticamente diferente nas 3 amostras ($p=0,635$), isto é, não se observa diferença significativa na sua distribuição. Não falando em eventuais viés inerentes à análise morfológica, minimizados pela avaliação comparativa de 2 observadores, aspectos relacionados com disparidades no número de fragmentos biopsados poderiam interferir nos resultados obtidos. Constata-se, de facto, que o número de fragmentos analisados na EDA2 é significativamente superior ao da EDA1 ($p=0,007$ pelo teste não paramétrico de *Wilcoxon*, usado porque a amostra não obedece a uma distribuição normal); porém, considerando mais uma vez os 25 doentes com 3 exames, não se observam diferenças estatisticamente significativas no número de fragmentos colhidos (*Teste de Friedman*, $p=0,195$), pelo que não se poderá atribuir as diferenças observadas a colheita insuficiente de material. Outra variável a ter em conta, neste contexto, seria o tempo decorrido entre as endoscopias, pois é sabido que os protocolos de colheita têm vindo a sofrer alterações ao longo dos anos, a par da evolução da própria definição de EB; no entanto, também este não é determinante no estudo, dado que o tempo entre EDA1 e EDA2 e entre EDA2 e EDA3 não foi significativamente diferente, em termos estatísticos (*Teste T-student* com $p=0,469$). O tempo de toma de IBP, mais uma vez, também não foi significativamente diferente entre os doentes em que a MI se manteve ou aumentou, o que leva a pensar que a duração do tratamento possa não ter tradução em termos de evolução da MI, havendo outros aspectos mais importantes a ter em conta, nomeadamente se a toma dos fármacos é correcta.

Comparando o comportamento de distintas variáveis, não é possível demonstrar dependência entre o Género e a Extensão, pelo *Teste exacto de Fisher* ($p=0,391$), nem do uso de IBP, relativamente ao desenvolvimento de MI ($p>0,05$). Esta última observação vem opor-

se à linha de pensamento baseada no RGE como factor etiopatogénico do EB, segundo a qual uma diminuição da acidez do conteúdo gástrico poderia associar-se a uma melhoria morfológica. Um outro aspecto que poderia ajudar a avaliar esta hipótese seria a avaliação do papel da cirurgia anti-refluxo, potencialmente mais eficaz no controlo do refluxo ácido e alcalino do que o simples uso de IBP; contudo, o reduzido número de doentes submetidos a cirurgia anti-refluxo (5) não permite analisar o seu impacto.

Assim, se por um lado não foi possível testemunhar uma progressão da MI, hipótese admissível a partir da tese evolutiva defendida por Chandrasoma (substituição metaplásica seguindo a sequência mucosa de tipo cárdico → oxíntico-cárdico → intestinal), por outro lado também não se verificou uma diminuição da MI, o que está de acordo com as conhecidas alterações do gene CDX2, determinantes do fenótipo intestinal. Estes resultados demonstram, pois, a estabilidade da metaplasia no contexto do EB, apoiando, ainda, a hipótese de irreversibilidade do processo metaplásico, uma vez instituída a MI (modelo defendido por David L. et al ^{59,60}). Pensando na comprovada sequência metaplasia → displasia → carcinoma, a verificação desta estabilidade, se nada permite concluir em relação ao risco de transformação neoplásica, sugere que este não poderá justificar-se pelo aumento da quantidade de MI com o tempo de evolução da doença, o que faz suspeitar que segmentos curtos de EB possam ter riscos de transformação neoplásica idênticos a segmentos longos, algo que é muito discutido actualmente, mas para o qual ainda não se conseguiu obter comprovação; por outro lado, começa, também, a questionar-se se o único epitélio com risco de transformação neoplásica será a MI, havendo dados a sugerirem que não são as células calciformes que possuem as alterações genéticas predisponentes à progressão neoplásica. Para efeitos de orientação do seguimento dos doentes, importava avaliar o valor preditivo das variáveis. Neste sentido, de todas as variáveis analisadas, apenas a MI na EDA1 tinha valor preditivo para a MI na EDA2, o que corrobora a estabilidade da MI ao longo do tempo, já verificada.

CONCLUSÕES

As indefinições e interrogações são ainda muitas, no que concerne ao EB, sendo, no entanto, globalmente aceite que se trata de uma metaplasia colunar do esófago.

É conhecido o doente *tipo* com EB; porém, ainda se desconhece qual a verdadeira incidência desta patologia na população em geral, estando mais estudada a sua relação com a presença de sintomas de RGE (o factor de risco maior) e concomitante DRGE.

Com o advento de novas técnicas começam a compreender-se as bases moleculares implicadas no desenvolvimento de EB e a sua progressão para ADC do esófago; todavia, o diagnóstico continua a resultar da combinação da observação endoscópica da alteração com a confirmação morfológica da mesma, pelo patologista, sendo que ambas as técnicas podem ser optimizadas.

A hipótese de que o desenvolvimento de MI é um evento tardio na histopatogénese do EB é cada vez mais aceite, o que relança a discussão quanto à definição de EB (se requer ou não a identificação morfológica de MI), levando a repensar os actuais esquemas de vigilância, cujo objectivo é a detecção precoce de ADC do esófago, uma neoplasia com mau prognóstico. Com este objectivo, e uma vez que, apesar da sua condição pré-neoplásica, nem todos os casos de EB evoluem para ADC do esófago, procura-se, também, encontrar biomarcadores que possam prever quais os doentes com maior risco.

Referências Bibliográfica

- 1 Tileston W. Peptic ulcer of the esophagus. *Am J Med Sci.* 1906; 132:240-240.
- 2 Souza RF, Krishnan K, Spechler SJ. Acid, Bile, and CDX: the ABCs of making Barrett's metaplasia. *Am J Physiol Gastrointest Liver.* 2008; 295:211-218.
- 3 Avidan B, Sonnenberg A, Schenell TG, Chejfec G, Metz A, Sontag S. Hiatal Hernia Size, Barrett's Length, and Severity of Acid Reflux are all Risk Factors for Esophageal Adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol.* 2002; 97/8:1930-1936.
- 4 Haggitt RC, Tryzelaar J, Ellis FH, et al. Adenocarcinoma complicating columnar-lined (Barrett's) esophagus. *Am J Pathol.* 1978; 70:1-5.
- 5 Modiano N, Gerson, LB. Barrett's esophagus: Incidence, etiology, pathophysiology, prevention and treatment. *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2007. 3(6): 1035-1045.
- 6 Bonino, JA, Sharma P. Barrettesophagus. *Curr Opin Gastroenterol.* 2004; 20:375-380.
- 7 Wang, KK, Sampliner ES. Updated Guidelines 2008 for the Diagnosis, Surveillance and Therapy of Barrett's Esophagus. *Am J Gastroenterol.* 2008; 103:788-797.
- 8 Badreddine RJ, Wang KK. Barrett esophagus: an uptake. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2010; 7:369-378.
- 9 Bansal A, Sharma P. Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2006 (2nd Edition). C.1: P.1-7.
- 10 Paull A, Tier JS, Dalton D, Camp RC, Loeb P, Goyal RK. The histological spectrum of Barrett's esophagus. *N Engl J Med.* 1976; 295:476-480.
- 11 Chandrasoma PT, Lokuhetty DM, Demeester TR, Bremmer CG, Peters JH, Oberg S, Groshen S. Definition of histopatologic changes in gastroesophageal reflux disease. *Am J Surg Pathol.* 2000; 24:344-351.
- 12 Chandrasoma PT, Der R, Dalton P, Kobayashi G, Ma Y, Peters J, Demeester T. Distribution and significance of epithelial types in columnar-lined esophagus. *Am J Surg Pathol.* 2001; 25:1188-1193.
- 13 Lyall A. Chronic peptic ulcer of the oesophagus: a report of eight cases. *Br J Surg.* 1937; 24:534-547.

- 14 Barrett NR. Chronic peptic ulcer of the esophagus and esophagitis. *Br J Surg.* 1950; 38:175-182.
- 15 Barrett NR. The lower esophagus lined by columnar epithelium. *Surgery.* 1957; 41:881-894.
- 16 Allison P, Johnstoneb A. The oesophagus lined gastric mucous membrane. *Thorax.* 1953; 8:87-101.
- 17 Lortat-Jacob JL. 7 Cases of ulcers of the esophagus. *Mem Acad Chir.* 1951; 11:1247-1255.
- 18 Bremner CG, Bremner RM. Fifty-eight years of Barrett's oesophagus. *Eur Surg.* 2009; 41/1:6-13.
- 19 Bremner CG, Lynch VP, Ellis FH. Barrett's esophagus: Congenital or acquired? An experimental study of esophageal mucosal regeneration in dog. *Surgery.* 1970; 68:209-216.
- 20 Chandrasoma P. Should long and short segment Barrett's esophagus be differentiated by the length of intestinal metaplasia rather than of glandular mucosa? In: Barrett's Esophagus 250 questions - 250 answers Vol I 165-168; Robert Giuli, Jörg Rüdiger Siewert. Daniel Couturier, Carmelo Scarpignato, Editors. John LibbeyEurotext, Paris, 2003.
- 21 Skinner DB, Walter BC, Riddell RH, Schmidt H, Iascone C, DeMeester TR. Barrett's esophagus: comparison of benign and malignant cases. *Ann Surg.* 1983; 198:554-565.
- 22 Hayward J. The lower end of the esophagus. *Thorax.* 1961; 16:36.
- 23 Schnell TG, Sontag SJ, Chejfec G. Adenocarcinomas arising in tongues or short segments of Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci.* 1992; 37:137-143.
- 24 Playford RJ. New British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut.* 2006; 55:442.
- 25 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; 43:524-530.
- 26 Cameron AJ. Epidemiology of columnar-lined esophagus and adenocarcinoma. *Gastroenterol Clin North Am.* 1997; 26:487-494.
- 27 Cameron AJ, Zinsmeister AR, Ballard DJ, Carney JA. Prevalence of columnar-lined (Barrett's) esophagus. Comparison of population-based clinical and autopsy findings. *Gastroenterology.* 1990; 99:918-922.

- 28 Ronkainen J, Aro P, Storskrubb T, *et al.* Prevalence of Barrett's esophagus in the general population: an endoscopic study. *Gastroenterology*. 2005; 129:1825-1831.
- 29 Ward EM, Wolfsen HC, Achem SR, *et al.* Barrett's esophagus is common in older men and women undergoing screening colonoscopy regardless of reflux symptoms. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101:12-17.
- 30 Gerson LB, Shetler K, Triadafiloulou G. Prevalence of Barrett's esophagus in asymptomatic individuals. *Gastroenterology*. 2002; 123:461-467.
- 31 Gopal DV, Lieberman, DA, Margaret N, *et al.* Risk factors for dysplasia in patients with Barrett's esophagus: results from a multicenter consortium. *Dig Dis Sci*. 2003; 48:1537-1541.
- 32 Shaheen NJ, Richter JE. Barrett's oesophagus. *Lancet*. 2009; 373:850-861.
- 33 Hirota WK, Loughney TM, Lazas DJ, Maydonovitch CL, Rhol V, Wong RK. Specialized intestinal metaplasia, dysplasia, and cancer of the esophagus and esophagogastric junction: prevalence and clinical data. *Gastroenterology*. 1999; 116:277-285.
- 34 Csendes A, Smok G, Burdiles P, Korn O, Gradiz M, Rojas J, Recio M. Prevalence of intestinal metaplasia according to the length of the specialized columnar epithelium lining the distal esophagus in patients with gastroesophageal reflux. *Dis Esophagus*. 2003; 16:24-28.
- 35 Hanna S, Rastogi A, Weston AP, Totta F, Schmitz R, Mathur S, McGregor D, Cherian R, Sharma P. Detection of Barrett's esophagus after endoscopic healing of erosive esophagitis. *Am J Gastroenterol*. 2006; 101:1416-1420.
- 36 Fass R, Hell RW, Garewal HS, Martinez P, Pulliam G, Wendel C, Sampliner RE. Correlation of oesophageal acid exposure with Barrett's oesophagus length. *Gut*. 2001; 48:310-313.
- 37 Cameron AJ, Lomboy CT. Barrett's esophagus: age, prevalence, and extent of columnar epithelium. *Gastroenterology*. 1992; 103:1241-1245.
- 38 Sharma P. Review article: prevalence of Barrett's oesophagus and metaplasia at the gastro-esophageal junction. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004; 20 (Suppl. 5):48-54.
- 39 Cook MB, Wild CP, Forman D. A systematic review and meta-analysis of the sex ratio for Barrett's esophagus, erosive reflux disease, and non erosive reflux disease. *Am J Epidemiol*. 2005; 162:1050-1061.
- 40 Ford AC, Forman D, Reynolds PD, *et al.* Ethnicity, gender, and socioeconomic status as risk factors for esophagitis and Barrett's esophagus. *Am J Epidemiol*. 2005; 162:454-460.

- 41 Caygill CP, Watson A, Reed PI, *et al.* Characteristics and regional variations of patients with Barrett's esophagus in the UK. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003; 15:1217-1222.
- 42 Van Blankenstein M. Some Observations on the Epidemiology of Barrett's Oesophagus and Adenocarcinoma of the Oesophagus[PhD thesis] Rotterdam, Erasmus University of Rotterdam; 2006.
- 43 Hassal E, Dimmick JE, Magee JF. Adenocarcinoma in childhood Barrett's esophagus: case documentation and the need for surveillance in children. *Am J Gastroenterol.* 1993; 88:282-288.
- 44 Dahms BB, Rothstein FC. Barrett's esophagus in children: a consequence of chronic gastroesophageal reflux. *Gastroenterology.* 1984; 86: 318-323.
- 45 Odze RD. Barrett's esophagus: histology and pathology for the clinician. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009; 6:478-490.
- 46 Kubo A, Corley DA. Body mass index and adenocarcinomas of the esophagus or gastric cardia: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2006; 15:872-878.
- 47 Voutilainen M, Sipponen P, Mecklin JP, Juhola M, Farkkila, M. Gastroesophageal reflux disease: prevalence, clinical, endoscopy and histopathological findings in 1128 consecutive patients referred for endoscopy due to dyspeptic and reflux symptoms. *Digestion.* 2000; 61:6-13.
- 48 Eloubeidi MA, Provenzale D. Clinical and demographic predictors of Barrett's esophagus among patients with gastroesophageal reflux disease: a multivariable analysis in veterans. *J Clin Gastroenterol.* 2001; 33:306-309.
- 49 Avidan B, Sonnenberg A, Schenell TG, Sontag SJ. Hiatal hernia and acid reflux frequency predict presence and length of Barrett's esophagus. *Dig Dis Sci.* 2002; 47:256-264.
- 50 Cameron AJ. Barrett's esophagus: prevalence and size of hiatal hernia. *Am J Gastroenterol.* 1999; 94:2054-2059.
- 51 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; 117:572-580.
- 52 Eberhard D, Tosh D. Transdifferentiation and metaplasia as paradigm for understanding development and disease. *Cell Mol Life Sci.* 2007; 65:33-40.

- 53 Clemons NJ, Fitzgerald RC, Farthing MJG. Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. Oxford:Blackwell Publishing Ltd; 2006 (2nd Edition). C.4: P.27-37.
- 54 Sarosi G, Brown G, Jainswal K, Feaginsn LA, Lee E, Crook TW, Souza RF, Zou YS, Shay JW, Spechler SJ. Bone marrow progenitor cells contribute to esophageal regeneration and metaplasia in a rat model of Barrett's esophagus. *Dis Esophagus*. 2008; 21:43-50.
- 55 Daniely Y, Liao G, Dixon D, Linnoila RI, Lori A, Randell SH, Oren M, Jetten AM. Critical role of p63 in the development of a normal esophageal and tracheobronchial epithelium. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004; 287:C171-181.
- 56 Olliver JR, Hardie LJ, Gong YY, Dexter S, Chalmers D, Harris KM, Wild CP. Risk Factors, DNA Damage, and Disease Progression in Barrett's Esophagus. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14 (3):620-625.
- 57 DeMeester SR, DeMeester TR. Columnar Mucosa and Intestinal Metaplasia of the Esophagus - Fifty Years of Controversy. *Annals of Surgery*. 2000; 3 (vol.231):303-321.
- 58 Collepriest BJ, Ward SG, Tosh D. How does inflammation cause Barrett's metaplasia?. *Current Opinion Pharmacol*. 2009; 9:721-726.
- 59 Mesquita P, Almeida R, Lunet N, Reis CA, Silva LFS, Serpa J, Van Seuningem I, Barros H, David L. Metaplasia - A Transdiferentiation Process that Facilitates Cancer Development: The Modelo f Gastric Intestinal Metaplasia. *Critic Rev Oncogen*. 2006; 12 (1-2):3-26.
- 60 Barros R, Costa LT, Pinto-de-Sousa J, Duluc I, Freund JN, David L, Almeida R. CDX2 autorregulation in human intestinal metaplasia of stomach: impact on the stability of the phenotype. *Gut*. 2011; 60:290-298.
- 61 Chaves P, Cardoso P, Almeida JMC, Pereira AD, Leitão CN, Soares J. Non-Goblet Cell Population of Barrett's Esophagus: Na Immunohistochemical Demonstration of Intestinal Differentiation. *Human Pathol*. 1999; 11 (vol.30):1291-1295.
- 62 Chaves P, Pereira AD, Suspiro A, Almeida JCM, Leitão CN, Soares J. Recurrent columnar-lined esophageal segments - study of the phenotypic characteristics using intestinal markers. *Dis Esophagus*. 2002; 15:282-286.
- 63 Ouatar-Lascar R, Fitzgerald RC, Triadafilopoulos D. Differentiation and proliferation in Barrett's esophagus and the effects of acid suppression. *Gastroenterology*. 1999; 117:327-335.
- 64 Krishnadath KK. Novel findings in the pathogenesis of esophageal columnar metaplasia or Barret's esophagus. *Current Opinion Gastroenterol*. 2007; 23:440-445.

- 65 Feagins LA, Souza RF. Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2006(2nd Edition). C.9: P.82-91.
- 66 Chaves P, Crespo M, Ribeiro C, Laranjeira C, Pereira AD, Suspiro A, Cardoso P, Leitão CN, Soares J. Chromosomal analysis of Barrett's cells: demonstration of instability and detection of the metaplastic lineage involved. *Modern Pathol.* 2007; 20:788-796.
- 67 Peters FT, Ganesh S, Kuipers EJ, Sluiter WJ, Klinkenberg-Knol EC, Lamers CB, Kleibeuker JH. Endoscopic regression of Barrett's oesophagus during omeprazole treatment; a randomized double blind study. *Gut.* 1999; 45:489-494.
- 68 Sharma P, Sampliner RE, Camargo E. Normalization of esophageal pH with high dose proton pump inhibitor therapy does not result in regression of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 92:582-585, 1997.
- 69 Sharma P, Morales TG, Bhattacharyya A, Garewall HS, Sampliner RE. Squamous islands in Barrett's esophagus: what lies underneath? *Am J Gastroenterol.* 1998; 93:332-335.
- 70 Fitzgerald RC, Omary MB, Triadaphylopoulos G. Dynamic effects of acid on Barrett's esophagus. An ex vivo proliferation and differentiation model. *J Clin Invest.* 1996; 98:2120-2128.
- 71 Lagergren J. Barrett's Esophagus and Esophageal Adenocarcinoma. Oxford: Blackwell Publishing Ltd; 2006 (2nd Edition). C.3: P.19-26.
- 72 Sharma P et al. The development and validation of an endoscopic grading system for Barret's esophagus: the Prague C & M criteria. *Gastroenterology.* 2006; 131:1392-1399.
- 73 Riddell RH, Odze RD. Definition of Barrett's Esophagus: Time for a Rethink - Is Intestinal Metaplasia Dead? *Am J Gastroenterol.* 2009; 104:2588-2594.
- 74 Sharma P, McQuaid K, Dent K, Fennerty MB, Sampliner R, Spechler S, Cameron A, Corley D, Falk G, Goldblum J, Hunter J, Jankowski J, Lundell L, Reid B, Shaheen NJ, Sonnenberg A, Wang K, Weistein W. A Critical Review of the Diagnosis and Management of Barrett's Esophagus: The AGA Chicago Workshop. *Gastroenterology.* 2004; 127:310-330.
- 75 Harrison R, Perry I, Haddadin W, McDonald S, Bryan R, Abrams K, Sampliner R, Talley NJ, Moayyedi P, Jankowski JA. Detection of Intestinal Metaplasia in Barrett's Esophagus: An Observational Comparator Study Suggests the Need for a Minimum of Eight Biopsis. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102:1154-1161.

- 76 Hahn H, Blount PL, Ayub K, Das KM, Souza R, Spechler S, Odze RD. Intestinal differentiation in metaplastic, non-goblet columnar epithelium in the esophagus. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33(7):1006-1015.
- 77 Chaves P, Crespo M, Ribeiro C, Laranjeira C, Pereira AD, Suspiro A, Cardoso P, Leitão CN, Soares J. Chromosomal analysis of Barrett's cells: demonstration of instability and detection of metaplastic lineage involved. *Mod Pathol*. 2007; 20:788-796.
- 78 Kelty C, Gough M, Van Wyk Q. Barrett's oesophagus: intestinal metaplasia is not essential for cancer risk. *Scand J Gastroenterol*. 2009; 42:1271-1274.
- 79 Takubo K, Aida J, Naomoto Y, Sawabe M, Arai T, Shiraishi H, Matsuura M, Ell C, May A, Pech O, Stolte M, Vieth M. Cardic rather than intestinal-type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma. *Hum Pathol*. 2009; 40:65-74.
- 80 Chandrasoma P, Wickramasinghe K, Ma Y, DeMeester T. Is intestinal metaplasia a necessary precursor lesion for adenocarcinomas of the distal esophagus, gastroesophageal junction and gastric cardia? *Dis Esophagus*. 2007; 20:36-41.
- 81 Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. *Robbins Basic Pathology*. New York: Saunders Elsevier; 2007 (8th Edition).
- 82 Sharma P, Weston AP, Morales T, Topalovski M, Mayo MS, Sampliner RE. Relative risk of dysplasia for patients with intestinal metaplasia in the distal oesophagus and in the gastric cardia. *Gut*. 2000; 46:9-13.
- 83 Sharma P, Weston AP, Topalovski M, et al. Magnification chromoendoscopy for the detection of intestinal metaplasia and dysplasia in Barrett's esophagus. *Gut*. 2003; 52:24-27.
- 84 Couvelard A, Cauvin J-M, Goldfain D, Rotenberg A, Robaszkiewicz M, Flejou JF, Groupe d'Etude l'Oesophage de Barrett. Cytokeratin immunoreactivity of intestinal metaplasia at normal oesophageal junction indicates its etiology. *Gut*. 2001; 49:761-766.
- 85 Stein HJ, Hoelt S, DeMeester TR. Functional foregut abnormalities in Barrett's esophagus. *J ThoracCardiovasc Surg*. 1993; 105:107-111.
- 86 Singg P, Taylor RH, Colin-Jones DG. Esophageal motor dysfunction and acid exposure in reflux esophagitis are more severe if Barrett's metaplasia is present. *Am J Gastroenterol*. 1994; 89:349-356.
- 87 Muller J, Werner M, Stolte M. Barrett's Esophagus: Histopathological Definitions and Diagnostic Criteria. *World J Surg*. 2004; 28:148-154.

- 88 Pohl H, Welch HG. The role of overdiagnosis and reclassification in the marked increase of esophageal adenocarcinoma incidence. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97 (2):142-146.
- 89 Murray L, Watson P, Johnston B, *et al.* Risk of adenocarcinoma in Barrett's oesophagus: population based study. *Br Med J.* 2003; 327:534-535.
- 90 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: 212-215.
- 91 Shaleen NJ, Crosby MA, Bozyski EM, Sandler RS. Is there publication bias in the reporting of cancer risk in Barrett's esophagus? *Gastroenterology.* 2000; 119 (2): 333-338.
- 92 Di Pietro, M, Fitzgerald. Barrett's esophagus: an ideal model to study cancer genetics. *Hum Genet.* 2009; 126 (2): 233-246.
- 93 Gatenby PA, Ramus JR, Caygill CP, Shepard NA, Watson A. Relevance of detection of intestinal metaplasia in non-dysplastic columnar-lined oesophagus. *Sand J Gastroenterol.* 2008; 43 (85): 524-530.
- 94 Takubo K, Aida J, Naomoto Y, Sawabe M, Arai T, Shiraishi H, Matsura M, Ell C, May A, Pech O, Stolte M, Vieth M. Cardic rather than intestinal-type background in endoscopic resection specimens of minute Barrett adenocarcinoma. *Hum Pathol.* 2009; 40 (1): 65-74.
- 95 Rudolph RE, Vaughan TL, Storer BE, Haggitt RC, Rabinovitch PS, Levine DS, Reid BJ. Effect of Segment Length in Risk for Neoplastic Progression in Patients with Barrett's Esophagus. *Ann Intern Med.* 2000; 132: 612-620.

ANEXOS

Anexo 1 - Declaração de Aceitação de Orientação



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Medicina

6º ano – Estágio Clínico



DECLARAÇÃO DE ACEITAÇÃO DE ORIENTAÇÃO DE TRABALHO DE MESTRADO

Exmº Senhor

Presidente da Faculdade de Ciências da Saúde da
Universidade da Beira Interior

(nome do orientador) Manoel Paulo da Costa Passal

(título académico) Professor Agregado, declaro que aceito ser

orientador do aluno (nome do aluno) Daniel Cristiano Pereira

com o número de inscrição 19909, no seu trabalho de Mestrado intitulado

"Metaplasia Colunar do Esófago - da epidemiologia à morfologia"

Covilhã, 30 de Agosto de 2011

Anexo 2 - Declaração de Aceitação de Co-orientação



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Medicina

6º ano – Estágio Clínico



DECLARAÇÃO DE ACEITAÇÃO DE CO-ORIENTAÇÃO DE TRABALHO DE MESTRADO

Exm^o Senhor
Presidente da Faculdade de Ciências da Saúde da
Universidade da Beira Interior

(nome do co-orientador) António Ildefonso Dias Pereira

(título académico) Licenciado declaro que aceito ser

co-orientador do aluno (nome do aluno) Deusete Cristina Vinha Pereira

com o número de inscrição 19909, no seu trabalho de Mestrado intitulado

"Metaplasia colunar do esófago - da epidemiologia à morfologia"

Covilhã, 30 de Agosto de 2011

Anexo 3 - Formulário do Processo individual

Ficha de recolha de dados

1. Número de Observação (Nobs) _____
2. Género (sex) ____ 1. Masculino 2. Feminino
3. Idade na Endoscopia 1 (Idade) _____
4. Tempo diagnóstico Barrett até Endoscopia 1 (Tempdiag) _____ (anos)
5. Extensão E. de Barrett (Ext) _____ cm
6. Terapêutica com IBP antes Endoscopia 1 (IBP1) ____ 1. Sim 2. Não 3. Desconhecido
7. Tempo IBP antes Endoscopia 1 (TempIBP1) ____ (anos)
8. Tempo entre Endoscopia 1 e Endoscopia 2 (TempEDAs) _____ (meses)
9. Terapêutica com IBP antes Endoscopia 2 (IBP2) ____ 1. Sim 2. Não 3. Desconhecido
10. Tempo IBP antes Endoscopia 2 (TempIBP2) ____ (anos)
11. Quantificação MI EDA1 (MIEDA1) ____ 0. Ausente 1. + 2. ++ 3. +++
12. Quantificação MI EDA2 (MIEDA2) ____ 0. Ausente 1. + 2. ++ 3. +++
13. Número fragmentos EDA1 (Nfrag1) _____
14. Número fragmentos EDA2 (Nfrag2) _____
15. Cirurgia anti-refluxo ____ 1. Sim antes EDA1 2. Sim antes EDA2 3. Não

Anexo 4 - Declaração de Aptidão para Provas Públicas



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR

DECLARAÇÃO

Eu (nome do orientador) Maurício Paulo Jesus Alves Rosal
(Título Académico) Prof. Associado Adjunto, na qualidade de
Orientador do(a) aluno(a) (nome e nº do aluno) Daniela Cristina
Viana Pereira, no seu trabalho de Mestrado intitulado
metaplasia colunar do esófago - da
epidemiologia à morfologia.

informo que o trabalho está concluído e considero que o(a) aluno(a) se encontra apto para apresentar o seu trabalho em provas públicas.

Covilhã, 29 de Maio de 2012.

(Assinatura do Orientador)